

**ANALISIS VARIASI GENETIK IKAN PENJA *INDIGENOUS*
PERAIRAN POLEWALI MANDAR SULAWESI BARAT
DAN IKAN NIKE (*Awaous sp.*) *INDIGENOUS*
PERAIRAN GORONTALO**



Skripsi

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Meraih Gelar Sarjana Sains
Jurusan Biologi pada Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Alauddin Makassar

Oleh:

MUHAMMAD YUSUF USMAN

NIM. 60300112005

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UIN ALAUDDIN MAKASSAR**

2016

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Mahasiswa yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muhammad Yusuf Usman
NIM : 60300112005
Tempat/Tgl.Lahir : Sempang/12 April 1995
Jurusan/Prodi : Biologi/S1
Fakultas : Sains dan Teknologi
Instansi : Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar
Judul : Analisis Variasi Genetik Ikan Penja *Indigenus* Perairan Polewali Mandar dan Ikan Nike (*Awaous sp.*) *Indigenus* Perairan Gorontalo

Menyatakan dengan sesungguhnya dan penuh kesadaran bahwa skripsi ini benar, adalah hasil karya sendiri. Jika di kemudian hari terbukti bahwa, ia merupakan duplikat, tiruan, plagiat, atau dibuat oleh orang lain, sebagian atau seluruhnya, maka skripsi dan gelar yang diperoleh karenanya batal demi hukum.

Makassar, Agustus 2016
Penyusun,

Muhammad Yusuf Usman
NIM: 60300112005

PERSETUJUAN PEMBIMBING

Pembimbing penulisan skripsi Saudara **MUHAMMAD YUSUF USMAN**, NIM: 60300112005, mahasiswa Jurusan Biologi pada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar, setelah meneliti dan mengoreksi dengan seksama skripsi berjudul, “Analisis Variasi Genetik Ikan Penja *Indigenous* Perairan Polewali Mandar dan Ikan Nike (*Awaous* sp.) *Indigenous* Perairan Gorontalo”, memandang bahwa skripsi tersebut telah memenuhi syarat-syarat ilmiah dan dapat disetujui untuk diajukan ke sidang munaqasyah.

Demikian persetujuan ini diberikan untuk diproses lebih lanjut.

Makassar, 26 Agustus 2016

Isna Rasdianah Aziz, S.Si., M.Sc.
Pembimbing II

Dr. Cut Muthiadin, S.Si., M.Si
Pembimbing I

PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi yang berjudul “Analisis Variasi Genetik Ikan Penja Indigenous Perairan Polewali Mandar dan Ikan Nike (*Awaous* sp.) Indigenous Perairan Gorontalo”, yang disusun oleh Muhammad Yusuf Usman, NIM: 60300112005, mahasiswa jurusan Biologi pada Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar, telah diuji dan dipertahankan dalam sidang *munaqasyah* yang diselenggarakan pada hari Senin, tanggal 29 Agustus 2016 M, bertepatan dengan 26 Dzul-Qa’idah 1437 H, dinyatakan telah dapat diterima sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana dalam Ilmu Sains dan Teknologi, Jurusan Biologi (dengan beberapa perbaikan).

Makassar, 29 Agustus 2016 M.
26 Dzul-Qa’idah 1437 H.

DEWAN PENGUJI:

Ketua	: Prof. Dr. H.Arifuddin, M.Ag	(.....)
Sekretaris	: Dr. Mashuri Masri S.Si., M.Kes	(.....)
Munaqisy I	: Dr. Muhammad Khalifah Mustami, M.Pd	(.....)
Munaqisy II	: Eka Sukmawaty, S.Si., M.Si	(.....)
Munaqisy III	: Prof. Dr. H.M. Galib. M. M. Ag	(.....)
Pembimbing I	: Dr. Cut Muthiadin, S.Si., M.Si	(.....)
Pembimbing II	: Isna Rasdianah Aziz, S.Si., M.Sc	(.....)

Diketahui Oleh:
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Alauddin Makassar,

Prof. Dr. H. Arifuddin, M.Ag.
NIP. 19691205 199303 1 001

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Puji dan syukur kepada Allah Swt yang senantiasa memberikan karunia, rahmat, hidayah dan inayah-Nya sehingga atas ridho-Nya penyusun dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Analisis Variasi Genetik Ikan Penja Indigenous Perairan Polewali Mandar dan Ikan Nike (*Awaous* sp.) Indigenous Perairan Gorontalo” dapat diselesaikan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar. Shalawat serta salam semoga tetap tercurah ke pangkuan baginda Nabi Muhammad Saw tauladan umat seluruh alam yang telah membawa risalah kebenaran berupa *dien al-Islam*.

Penyusun menyadari bahwa penulisan ini masih banyak kekurangan di dalamnya, hal ini dikarenakan terbatasnya kemampuan yang ada pada diri penyusun. Penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada ayahanda Usman dan Ibunda Nur Hayati atas doa, bimbingan, usaha, pengorbanan, dan dengan sepuh hati telah memberikan segalanya tanpa memikirkan diri sendiri untuk anaknya. Penyusun juga menyadari bahwa penulisan ini tidak mungkin dapat terselesaikan tanpa adanya partisipasi atau bantuan dari berbagai pihak, untuk itu pada kesempatan ini dengan kerendahan hati, penyusun ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. H.Musafir Pababbari, M.Si, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar dan juga seluruh jajarannya.
2. Prof. Dr. H.Arifuddin, M.Ag, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar dan seluruh jajarannya.
3. Dr. Mashuri Masri S.Si., M.Kes dan Baiq Farhatul Wahidah, S.Si., M.Si selaku Ketua dan Sekertaris Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
4. Dr. Cut Muthiadin, S.Si., M.Si dan Isna Rasdianah Aziz, S.Si.,M.Sc selaku Pembimbing, terima kasih atas segala arahan, bimbingan, waktu serta kesabarannya selama ini menghadapi penyusun.
5. Dr. Muhammad Khalifah Mustami, M.Pd dan Prof. Dr H.M. Galib. M. M. Ag, selaku Penguji I dan III yang selama ini banyak memberikan saran dan kritik yang baik bagi penyusun.
6. Eka Sukmawaty, S.Si., M.Si, selaku Penguji II dan sekaligus kepala Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar, serta seluruh stafnya.

7. Kepala Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin Makassar yang telah memberikan persetujuan serta fasilitas untuk melakukan penelitian.
8. Handayani Halik, S.Si., M.Si, selaku pembimbing saat melakukan penelitian, serta seluruh staf Laboratorium Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin Makassar.
9. Seluruh Bapak/Ibu Dosen Pengajar yang selama ini telah menjadi inspirator, mengajarkan banyak hal serta pengetahuan yang berlimpah kepada penyusun di kampus ini, serta kepada seluruh staf Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar (Terima kasih Ibu Hasanah Apriananda).
10. Kepala dan staf Perpustakaan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
11. Keluarga Kecilku di Biologi “KELAS BANTA” Biological *An Nidus To Affection*” terima kasih warnawarni kehidupan biologinya, saya sangat bahagia bisa mengenal dan berproses belajar bersama kalian. Serta teman-teman Biologi angkatan 2012 “RANVIER” yang telah memberikan dukungan dan kenangan yang tak terlupakan selama ini.
12. Seluruh saudaraku yang ada di “ONE FREKUENSI” yang telah membantu dan berjuang bersama dalam menjalani kehidupan sebagai mahasiswa yang merantau, derita anak kost dan seluruh proses yang tidak bisa didapatkan di bangku kuliah.
13. Kedua adik kandung penyusun serta adik-adikku yang bukan sedarah tetapi menganggap penyusun sebagai kakaknya sendiri yang selalu mengingatkan, membantu, mendukung dan selalu siap mendengar keluhan penyusun.
14. Serta kepada seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang memberikan doa, semangat, dukungan, saran dan pemikiran sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

Dengan rendah hati penulis berharap semoga jasa baik yang telah mereka berikan menjadi amal ibadah dan mendapatkan balasan yang lebih baik dari Allah Swt, Sebagai akhir kata, penulis berharap skripsi ini bermanfaat dan dapat menjadi inspirasi bagi peneliti lain serta menambah khasanah ilmu pengetahuan.

Makassar, 26 Agustus 2016 M.
23 Dzul-Qa’idah 1437

H.

Penyusun

Muhammad Yusuf Usman
60300112005

DAFTAR ISI

JUDUL i

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	ii
PERSETUJUAN PEMBIMBING.....	iii
PENGESAHAN SKRIPSI.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR ILUSTRASI	x
ABSTRAK	xi
ABSTRACT.....	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1-7
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	5
C. Ruang Lingkup Penelitian.....	6
D. Kajian Pustaka.....	6
E. Tujuan Penelitian.....	7
F. Kegunaan Penelitian.....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8-34
A. Ayat yang Relevan.....	8
B. Tinjauan Umum Tentang Ikan Penja dan Ikan Nike (<i>Awaous</i> <i>sp.</i>)	10
C. Tinjauan Umum Tentang Variasi Genetik.....	12
D. Tinjauan Umum Tentang DNA (<i>Deoxyribonucleic acid</i>)	18
E. Tinjauan Umum Tentang Analisis Variasi Genetik	23
F. Kerangka Pikir.....	34
BAB III METODELOGI PENELITIAN.....	35-42
A. Jenis dan Lokasi Penelitian.....	35
B. Populasi dan Sampel.....	35
C. Variabel Penelitian	35
D. Defenisi Operasional Variabel.....	35
E. Metode Pengumpulan Data	36
F. Instrumen Penelitian (Alat dan Bahan)	36
G. Prosedur Kerja.....	37
1. Ekstraksi DNA.....	37
2. Amplifikasi	38
3. Elektroforesis.....	39

4. Sekuensing.....	40
5. Analisis Data.....	42
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	43-54
A. Hasil Penelitian	43-47
1. Profil <i>Random Amplified Polymorphism</i> DNA (RAPD)....	43
2. Jarak Genetik	45
3. Sekuensing.....	45
B. Pembahasan.....	47-54
BAB V PENUTUP.....	55
A. Kesimpulan	55
B. Saran.....	55
KEPUSTAKAAN	56-61
Lampiran 1. Alat-alat yang digunakan.....	62
Lampiran 2. Komposisi PCR mix menggunakan GoTaq® Green Master Mix PCR.....	66
Lampiran 3. Analisis Data Jarak Genetik	67
Lampiran 4. Analisis BLAST (<i>Basic Local Alignment Search Tools</i>)	68
Lampiran 5. Kualitas DNA ikan Penja dan Nike (<i>Awaous</i> sp.).....	70
Lampiran 6. Pengerjaan saat di Laboratorium	70
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	71

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Deskripsi siklus, proses, suhu dan waktu dalam amplifikasi DNA genom ikan penja dan ikan nike (<i>Awaous</i> sp.)	37
Tabel 3.2 Deskripsi sekuen primer RAPD pada amplifikasi DNA.....	38
Tabel 3.3 Kategori nilai keragaman genetik, struktur populasi dan jarak genetik	41



DAFTAR ILUSTRASI

Gambar 2.1. Morfologi ikan nike (<i>Awaous</i> sp.).....	7
Gambar 4.1. Ikan Penja, Ikan Nike (<i>Awaous</i> sp.) dan Perbandingan ikan Penja dan ikan Nike (<i>Awaous</i> sp.)	42
Gambar 4.2. Elektroforesis hasil amplifikasi PCR sampel DNA ikan penja dan ikan nike (<i>Awaous</i> sp.) dengan menggunakan primer OPA-1, OPA-2, OPA-3, OPA-4, OPA-5, OPA-6, OPA-7, OPA-8 dan OPC-5.	43
Gambar 4.3. Dendrogram jarak genetik Nei's (1972) dari ikan penja dan ikan nike (<i>Awaous</i> sp.).....	45
Gambar 4.4. Hasil BLAST ikan nike <i>indigenous</i> perairan Gorontalo	47
Gambar 4.5. Hasil BLAST ikan penja <i>indigenous</i> perairan Polewali Mandar Sulawesi Barat	47
Gambar 4.6. Prinsip kerja ekstraksi DNA dengan menggunakan metode <i>mini column</i>	49

ABSTRAK

Nama : Muhammad Yusuf Usman
NIM : 60300112005
Judul Skripsi : Analisis Variasi Genetik Ikan Penja *Indigenous* Perairan Polewali Mandar dan Ikan Nike (*Awaous sp.*) *Indigenous* Perairan Gorontalo

Ikan Penja merupakan jenis ikan asli daerah (*Indigenous species*) perairan Polewali Mandar Sulawesi Barat sedangkan ikan Nike (*Awaous sp.*) merupakan ikan musiman khas daerah Gorontalo. Variasi genetik menggambarkan adanya keragaman dalam satu spesies. Adanya keragaman terlihat dari beberapa karakteristik, baik dari dalam (*genotipe*) yaitu variasi secara molekuler yang berkaitan dengan variasi di dalam protein dan bahan genetik (DNA) maupun dari luar (*fenotipe*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui variasi genetik dari ikan Penja *indigenous* perairan Polewali Mandar dan ikan Nike (*Awaous sp.*) *indigenous* perairan Gorontalo. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April 2016 di Laboratorium Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin Makassar. Penelitian ini menggunakan metode *Random Amplified Polymorphism DNA* (RAPD) dengan analisis keragaman genetik menggunakan program TFPGA (*Tools For Population Genetic Analysis*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa jarak genetik (*Distance*) antara ikan Penja dan ikan Nike (*Awaous sp.*) berkisar 0.0364 dengan indeks similaritas (*Indentities*) berkisar 0.9642, berdasarkan kategori nilai jarak genetik, maka tergolong dalam kategori rendah. Semakin tinggi indeks similaritas semakin kecil variasi genetiknya atau dengan kata lain semakin kecil jarak genetiknya, merupakan kekerabatan yang dekat dalam suatu populasi tersebut. Semakin tinggi indeks similaritasnya mencerminkan semakin jauh hubungan kekerabatannya.

Kata kunci : Variasi Genetik, Ikan, Indigenous, RAPD.

ABSTRACT

Name : Muhammad Yusuf Usman
NIM : 60300112005
Thesis Title : Analysis of Genetic Variation Penja Indigenous from Polewali Mandar and Nike (*Awaous* sp.) Indigenous from Gorontalo

Penja fish is an indigenous species of fish in Polewali Mandar West Sulawesi, while Nike fish (*Awaous* sp.) is seasonal fish of Gorontalo. Genetic variation shows that there is a variety in a species. It is shown by some characteristics. They are genotype and fenotipe. Genotype is variation that relates to variation in protein and genetic material (DNA). It is an internal factor meanwhile fenotipe is an external factor. This research aims to know genetic variation of and Nike (*Awaous* sp.). This research was conducted on April 2016 in Laboratory Hospital Education of Hasanuddin University Makassar. It used Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD) method. Genetic variation was analyzed by TFGPA (Tools For Population Genetic Analysis) program. The result showed that genetic distance between Penja and Nike was about 0.0364 meanwhile similarity index was about 0.9642. It was low category depending on genetic distance value. The higher of similarity index showed the lower of their genetic variation, or in the other words the lower of their genetic distance were closely related in a population. So the higher of their similarity index reflected the farther of their genetic relationship.

Keywords: Genetic variation, Fish, Indigenous, RAPD.

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Alam semesta dengan segala isinya diciptakan Allah hanya untuk kepentingan makhluk hidup. Hukum Tuhan yang berlaku di dalam alam semesta memungkinkan manusia untuk memanfaatkannya. Ini semua adalah karunia yang dilimpahkan-Nya kepada manusia. Islam mengajarkan kepada seluruh umat manusia untuk memanfaatkan lingkungan perairan (seperti sungai dan laut) sehingga dapat mengambil keuntungan (ikan) darinya, sebagaimana di sebutkan dalam QS An-Nahl/16: 14.

وَهُوَ الَّذِي سَخَّرَ الْبَحْرَ لِتَأْكُلُوا مِنْهُ لَحْمًا طَرِيًّا وَتَسْتَخْرِجُوا مِنْهُ حِلْيَةً تَلْبَسُونَهَا وَتَرَى الْفُلْكَ مَوَاحِرَ فِيهِ وَلِتَبْتَغُوا مِنْ فَضْلِهِ ۚ وَلَعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ ۝

TERJEMAHNYA:

Dan Dialah yang menundukkan lautan (untukmu), agar kamu dapat memakan daging yang segar (ikan) darinya, dan (dari lautan itu) kamu mengeluarkan perhiasan yang kamu pakai. Kamu (juga) melihat perahu berlayar padanya, dan agar kamu mencari sebagian karunia-Nya, dan agar kamu bersyukur (Kementerian Agama RI, *Al-Qur'an dan Terjemahannya* edisi 2015).

Menurut tafsir Al-Mishbah ayat ini menyatakan bahwa: Dan Dia, yakni Allah Swt, yang menundukkan lautan dan sungai serta menjadikannya tempat hidup binatang dan tempatnya berkembang serta pembentukan aneka perhiasan. Itu dijadikan demikian agar kamu dapat menangkap hidup-hidup atau yang mengapung dari ikan dan sebagainya yang berdiam di sana sehingga kamu dapat memakan darinya daging yang segar yakni binatang-binatang laut itu dan kamu dapat mengeluarkan, yakni mengupayakan dengan cara bersungguh-sungguh untuk mendapatkan darinya, yakni

dari laut dan sungai itu perhiasan yang kamu pakai, seperti permata, mutiara dan semacamnya (Shihab, 2002: 201).

Negara Indonesia terkenal memiliki potensi kelautan dan pesisir yang kaya. Luas wilayah perairan laut Indonesia diperkirakan mencapai 5,8 juta km² dengan panjang garis pantai 81.000 km² (Watanabe, 2001: 25). Hal ini sesuai dengan sebutan Indonesia sebagai negara kepulauan (*Archipelagic state*), yang memiliki 17.508 gugusan pulau-pulau. Potensi sumberdaya pesisir di Indonesia dapat digolongkan sebagai kekayaan alam yang dapat pulih (*Renewable resources*), tidak dapat pulih (*Non-renewable resources*), dan berbagai macam jasa lingkungan (*Environmental service*). Kekayaan alam Indonesia tersebut dibuktikan dengan berbagai ragam sumberdaya hayati pesisir yang penting seperti hutan mangrove, terumbu karang, padang lamun dan rumput laut, dan perikanan (Razali, 2004: 61).

Wilayah laut Indonesia telah diketahui memiliki potensi sumberdaya hayati yang cukup tinggi, termasuk sumberdaya hayati perikanan. Sumberdaya ikan merupakan sumberdaya yang dapat pulih (*Renewable resources*) dan berdasarkan habitatnya di laut secara garis besar dibagi menjadi dua kelompok yaitu jenis ikan pelagis dan ikan demersal. Ikan pelagis adalah kelompok ikan yang berada pada lapisan permukaan hingga kolom air dan mempunyai ciri khas utama, yaitu dalam beraktivitas selalu membentuk gerombolan (*Schooling*) dan melakukan migrasi untuk berbagai kebutuhan hidupnya, sedangkan ikan demersal adalah ikan-ikan yang berada pada lapisan yang lebih dalam hingga dasar perairan, dimana umumnya hidup secara soliter dalam lingkungan spesiesnya (Mustafa, 2013: 73).

Perkembangan industri perikanan di Indonesia mengalami peningkatan yang semakin baik dari tahun ke tahun, terutama untuk memenuhi kebutuhan masyarakat. Berdasarkan data tahun 2004 tercantum bahwa hasil perikanan tangkap secara nasional

sebesar 4.320.241 ton dan memiliki indeks kenaikan rata-rata per tahun sebesar 3,48%. Secara keseluruhan, sebanyak 2.426.259 ton atau 56,16% dari hasil tangkapan dipasarkan dalam keadaan segar, baik untuk pasar lokal ataupun untuk tujuan ekspor dan sebesar 1.117.965 ton atau 25,87% dipergunakan untuk keperluan industri pengolahan ikan secara tradisional (Sastra, 2008: 1).

Sumberdaya ikan yang merupakan suatu sumberdaya penting karena dengan peningkatan ekspor perikanan, sesuai dengan tujuan pembangunan dalam sektor perikanan untuk dapat meningkatkan kesejahteraan dan pendapatan masyarakat pesisir dan melepaskan Indonesia dari krisis ekonomi. Di sektor perikanan terkandung kekayaan laut yang sangat beragam, antara lain dari jenis-jenis ikan pelagis (cakalang, tuna, layar, teri) dan jenis ikan demersal (kakap, kerapu) (Razali, 2004: 62).

Salah satu contoh ikan pelagis yaitu ikan penja dan ikan nike (*Awaous* sp.). Ikan Penja merupakan jenis ikan asli daerah (*Indigenous species*) perairan Polewali Mandar Sulawesi Barat karena belum di temukan di perairan lain di Indonesia, namun ikan ini belum banyak dikenal dan belum diketahui jelas jenis spesiesnya (PERDA, 2012: 23).

Ikan nike (*Awaous* sp.) atau dalam bahasa daerah Gorontalo dinamakan Duwo. Ikan nike merupakan ikan musiman khas daerah Gorontalo dan dijadikan sebagai bahan pangan bagi masyarakat Gorontalo (Basri, 2015: 3).

Kajian ilmiah dan pengetahuan yang rendah tentang ikan penja *indigenous* perairan Polewali Mandar dan ikan nike (*Awaous* sp.) *indigenous* perairan Gorontalo belum banyak dilakukan. Hal ini yang mendasari dilakukannya penelitian mengenai aspek genetik. Variasi genetik memiliki dua peranan penting yaitu populasi yang beragam akan semakin tahan untuk hidup dalam jangka waktu yang lama dan tingkat adaptasi terhadap perubahan lingkungan semakin besar (Kurniawirawan, 2007: 1).

Masyarakat umumnya menganggap bahwa ikan penja dan ikan nike (*Awaous* sp.) itu merupakan jenis ikan yang sama. Hal inilah yang menjadi dasar dilakukannya penelitian tentang variasi genetik pada kedua ikan ini. Variasi genetik dapat digunakan untuk menduga hubungan kekerabatan (Handiwirawan, 2006: 144).

Variasi merupakan suatu fenomena umum yang terdapat pada suatu populasi. Keragaman genetik merupakan hirarki yang paling rendah dalam tingkatan keragaman hayati yang menggambarkan keragaman di dalam spesies yang merefleksikan keragaman sampai pada level DNA. Keragaman genetik merupakan kunci penting bagi suatu spesies untuk dapat bertahan hidup dan menjamin kestabilan populasi dalam waktu yang lama, yaitu menentukan kemampuan respon suatu populasi terhadap seleksi, baik seleksi alam ataupun buatan. Populasi dengan keragaman genetik yang tinggi memiliki peluang hidup yang lebih tinggi, karena banyak alternatif gen atau kombinasi gen yang tersedia untuk merespon perubahan kondisi lingkungan yang dihadapi. Penurunan keragaman atau variasi genetik bisa disebabkan oleh beberapa hal seperti isolasi populasi, *inbreeding*, dan *genetic drift*. Adanya ciri yang bervariasi bisa diidentifikasi secara visual dari kenampakan morfologi (*fenotipe*) maupun yang lebih dalam lagi adalah variasi secara molekuler yang berkaitan dengan variasi di dalam protein dan bahan genetik (DNA) (Simatupang, 2012: 3).

Variasi genetik suatu populasi akan mempengaruhi respon individu terhadap seleksi, baik seleksi alam maupun buatan yang dilakukan manusia untuk memenuhi kebutuhan individu tersebut. Gen yang mampu beradaptasi akan menyebabkan individu mengalami kematian. Oleh karena itu di dalam populasi diperlukan keragaman genetik yang akan menjamin kestabilan populasi dalam waktu yang lama (Kurniawirawan, 2007: 1).

Keragaman genetik dapat dilihat berdasarkan nilai heterozigositas. Nilai Heterozigositas merupakan salah satu parameter yang dapat digunakan untuk mengukur tingkat keragaman genetik dalam suatu populasi. Heterozigositas diperoleh dari hasil perhitungan frekuensi gen pada masing-masing lokus. Semakin tinggi frekuensi heterozigot pada suatu populasi, maka semakin tinggi tingkat keragamannya (Vika, 2015: 74).

Salah satu metode yang digunakan untuk menentukan variasi genetik adalah *Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD)* menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Penanda molekuler RAPD yang digunakan merupakan sekuen DNA polimorfik yang dipisahkan oleh gel elektroforesis PCR menggunakan satu primer oligonukleotida pendek secara acak. Teknik RAPD merupakan teknik analisis DNA yang cepat dan murah dalam mendapatkan data molekuler genetik (Beaumont, 2003 dalam Kusminies, 2011: 450). Keunggulan lainnya yaitu bahwa RAPD memiliki kriteria sebagai sistem marka yang ideal karena polimorfiknya yang tinggi, mudah dan cepat, serta ekonomis. Di samping itu RAPD tidak membutuhkan *probe* atau informasi sekuen seperti untuk analisis RFLP dan DNA satelit (Dunham, 2004 dalam Simatupang, 2012: 3).

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian, dalam penelitian ini dapat dirumuskan masalah, yaitu bagaimana variasi genetik pada ikan penja *indigenous* perairan Polewali Mandar dan ikan nike (*Awaous sp.*) *indigenous* perairan Gorontalo?

C. Ruang Lingkup Penelitian

Sampel penelitian berupa ikan penja dan ikan nike (*Awaous* sp.) di ambil dari nelayan di sekitar perairan Polewali Mandar dan Gorontalo. Penelitian ini dilakukan di Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin Makassar pada bulan April 2016.

D. Kajian Pustaka

Adapun penelitian terdahulu yang menjadi acuan dalam melakukan penelitian ini adalah, sebagai berikut:

1. Penelitian mengenai Variasi Genetik Ikan Anggoli (*Pristipomoides multidentis*) berdasarkan Pola Pita Allozim yang dilakukan oleh Haryanti dkk pada tahun 2003. Hasilnya menunjukkan populasi Maluku memiliki variasi genetik lebih tinggi dibanding populasi Bali dan Sumbawa, (iii) Jarak genetik (D) terdekat diperoleh pada pasangan Bali dan Sumbawa $D=0.002$, sedang jarak terjauh diperoleh populasi Maluku sebesar $D= 0.005$.
2. Penelitian lainnya yaitu Variasi Genetik ikan hias Clown (*Amphiprion ocellaris*) yang dilakukan Setiawati dkk pada tahun 2007. Hasilnya menunjukkan populasi Sulawesi selatan dan Madura mempunyai pasangan alel yang hampir sama dengan jarak genetik yang dekat (0.107), sedangkan populasi Bali mempunyai jarak genetik paling jauh (0.270) terhadap 2 populasi lainnya.
3. Selain itu terdapat juga penelitian yang dilakukan Estu Nugroho pada tahun 2011 dengan judul Evaluasi Variasi Genetik Ras-Ras Ikan Gurame Dengan Menggunakan Marker DNA. Hasil Uji Fst berpasangan menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata antar tiga strain yang diuji. Terdapat variasi genetik pada tingkat keragaman dari tiga strain ikan gurame. Keragaman

tertinggi dimiliki ikan gurame ras Bluesafir (Heterozygositas=0,3050), diikuti ras Paris (Heterozygositas = 0.2832) dan Bastar (Heterozygositas = 0.2360).

E. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui variasi genetik dari ikan penja *indigenous* perairan Polewali Mandar dan ikan nike (*Awaous* sp.) *indigenous* perairan Gorontalo.

F. Kegunaan Penelitian

Adapun kegunaan penelitian ini adalah dijadikan sebagai berikut:

1. Untuk mengeksplorasi kekayaan biota laut asli daerah (*Indigenous species*) Indonesia.
2. Informasi untuk menentukan dasar kebijakan konservasi dan pelestarian sumberdaya genetik ikan penja *indigenous* perairan Polewali Mandar dan ikan nike (*Awaous* sp.) *indigenous* perairan Gorontalo.
3. Sebagai sumber dasar untuk melakukan rekayasa genetik.
4. Sebagai sumber informasi dan bahan relevansi bagi penelitian-penelitian selanjutnya.

BAB II TINJAUAN TEORITIS

A. Ayat yang Relevan

Variasi genetik menggambarkan adanya keragaman dalam satu spesies. Adanya keragaman terlihat dari beberapa karakteristik, baik dari dalam (*genotipe*) yaitu variasi secara molekuler yang berkaitan dengan variasi di dalam protein dan bahan genetik (DNA) maupun dari luar (*fenotipe*) (Hayuningtyas, 2010: 573) sebagaimana di sebutkan dalam QS Faatir/35: 28.

وَمِنَ النَّاسِ وَالْدَّوَابِّ وَالْأَنْعَامِ مُخْتَلِفٌ أَلْوَنُهُ كَذَلِكَ إِنَّمَا يَخْشَى اللَّهَ مِنْ عِبَادِهِ
الْعُلَمَاءُ إِنَّ اللَّهَ عَزِيزٌ غَفُورٌ ٢٨

TERJEMAHNYA:

Dan demikian (pula) di antara manusia, makhluk bergerak yang bernyawa, dan hewan-hewan ternak ada yang bermacam-macam warnanya (dan jenisnya). Di antara hamba-hamba Allah yang takut kepada-Nya, hanyalah para ulama. Sungguh, Allah Maha Perkasa, Maha Pengampun (Kementerian Agama RI, *Al-Qur'an dan Terjemahannya* edisi 2015).

Setelah memaparkan bahwa berbagai jenis buah-buahan dan perbedaan warna pegunungan itu berasal dari suatu unsur yang sama yakni buah-buahan berasal dari air dan gunung-gunung berasal dari magma, ayat ini pun menyitir perbedaan bentuk dan warna makhluk hidup. Ayat di atas menyatakan: Dan di antara manusia, binatang-binatang melata dan binatang-bintang ternak yakni unta, sapi dan domba bermacam-macam bentuk, ukuran, jenis dan warnannya seperti itu pula yakni keragaman tumbuhan dan gunung-gunung. Sebagaimana dari penyebab perbedaan itu dapat ditangkap maknanya oleh ilmuwan dan karena itu sesungguhnya yang takut kepada

Allah di antara hamba-hamba-Nya, hanyalah ulama. Sesungguhnya Allah Maha Perkasa lagi Maha Pengampun (Shihab, 2002: 60).

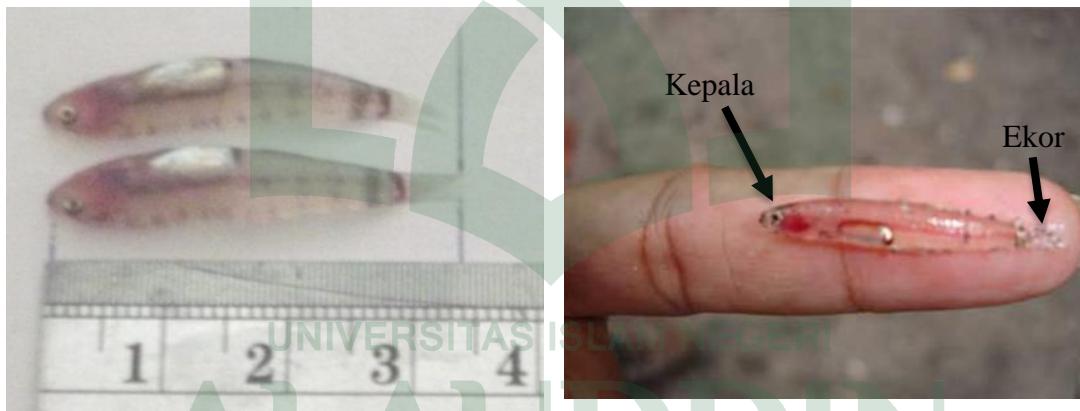
Firman-Nya *kadzalika* dipahami oleh banyak ulama dalam arti seperti keragaman itu juga terjadi pada makhluk-makhluk hidup itu. Ada juga ulama yang memahaminya dalam arti “seperti itulah perbedaan-perbedaan yang nampak dalam kenyataan yang dialami makhluk”. Ini kemudian mengantarkan kepada pernyataan berikutnya yang maknanya adalah “Yang takut kepada Allah dari manusia yang berbeda-beda warnanya itu hanyalah para ulama/cendekiawan (Shihab, 2002: 60).

Ayat ini menggaris bawahi juga kesatuan sumber materi namun menghasilkan aneka perbedaan. Sperma yang menjadi bahan penciptaan dan cikal bakal kejadian manusia dan binatang, pada hakikatnya nampak tidak berbeda dalam kenyataannya satu dengan yang lain. Bahkan sekiranya kita menggunakan alat pembesar sekalipun, sperma-sperma tersebut tampak tidak berbeda. Di sinilah letak salah satu rahasia dan misteri gen dan plasma. Ayat ini pun mengisyaratkan bahwa faktor genetislah yang menjadikan tumbuh-tumbuhan, hewan dan manusia tetap memiliki ciri khasnya dan tidak berubah hanya disebabkan habitat dan makanannya. Maka sungguh benar jika ayat ini menyatakan bahwa para ilmuwan yang mengetahui rahasia-rahasia penciptaan sebagai kelompok manusia yang paling takut kepada Allah (Shihab, 2002: 60).

Tháhir Ibn Ásyûr menulis bahwa yang dimaksud dengan ulama adalah orang-orang yang mengetahui tentang Allah dan syariat. Sebesar kadar pengetahuan tentang hal itu sebesar itu juga kadar kekuatan *khasyat*/takut (Shihab, 2002: 61). Puncak ilmu agama adalah pengetahuan tentang Allah, sedang seperti terbaca di atas, ilmuwan sosial dan alam memiliki rasa takut dan kagum kepada Allah yang lahir dari pengetahuan mereka tentang fenomena alam dan sosial dan pengetahuan mereka tentang Allah (Shihab, 2002: 63).

B. Tinjauan Umum Ikan Penja dan Ikan Nike (*Awaous sp.*)

Ikan penja merupakan jenis ikan asli daerah (*Indigenous species*) perairan Polewali Mandar. Ikan ini memiliki kesaamaan dengan ikan nike (*Awaous sp.*) khas daerah Gorontalo. Ikan nike (*Awaous sp.*) atau dalam bahasa daerah Gorontalo dinamakan Duwo. Ikan nike merupakan ikan musiman khas daerah Gorontalo dan dijadikan sebagai bahan pangan bagi masyarakat Gorontalo. Ikan nike (*Awaous sp.*) di perairan Gorontalo merupakan *schooling* dari *juvenil Awaous melanocephalus*. Ikan nike merupakan kelompok anak ikan dari famili Gobiidae. Ikan-ikan ini merupakan ikan-ikan kecil dengan panjang maksimum ± 8 cm. Ciri-ciri lain dari ikan nike adalah tidak berwarna atau keputih-putihan serta tidak bersisik. Bentuk ikan nike terlihat pada gambar 2.1. (Yusuf, 2011: 5).



Gambar. 2.1. Morfologi ikan nike (*Awaous sp.*) (Yusuf, 2011: 33).

Ikan nike (*Awaous sp.*) termasuk ikan *anadromous* yaitu ikan yang hidupnya di laut tetapi bermigrasi ke air tawar untuk bertelur, telur diletakkan pada substrat di dasar perairan, setelah telur menetas larvanya hanyut ke laut, selanjutnya *juvenil* barulah kembali ke sungai asal induknya setelah beberapa saat berada di perairan laut (Yamasaki, 2006: 90).

Ikan nike (*Awaous* sp.) bersifat *anadromous* hidup dan berkembang di perairan laut, awalnya ikan tersebut menetas di perairan sungai kemudian larva tersebut terbawa ke laut oleh arus sungai, hidup dan berkembang sampai beberapa waktu hingga menjadi juvenil, selanjutnya akan kembali ke habitatnya di perairan tawar (Maie, 2009: 344). Umumnya ikan dari famili Gobiidae mempunyai telur yang demersal, yaitu melekat pada suatu objek di dasar perairan seperti pada batu, di antara celah-celah batu, dan kadang-kadang berada di dalam ataupun di antara vegetasi (Keith, 2003: 1).

Ikan-ikan dari famili Gobiidae melakukan migrasi dalam bentuk *schooling* bertujuan untuk menghindari pemangsaan. *Schooling* ikan dari famili Gobiidae biasanya tidak hanya dengan satu jenis juvenil atau ikan dewasa. Dalam satu *schooling* atau gabungan spesies dalam satu *schooling* dengan jumlah 30-100 individu. *Schooling* ikan nike terdiri dari *juvenil* ikan *Awaous melanocephalus* dan *juvenil* ikan *Eleotris frusca*, dari *schooling* tersebut ikan *Awaous melanocephalus* merupakan spesies penyusun utama yaitu sebesar 99%, sedangkan ikan *Eleotris frusca* hanya merupakan spesies ikutan (Yusuf, 2011: 6).

Beberapa pemanfaatan ikan nike (*Awaous* sp.) adalah dibuat perkedel, tumis, dan pepes. Pemanfaatan ikan nike (*Awaous* sp.) dalam bentuk olahan dengan daya simpan yang lebih lama belum dilakukan. Untuk menyiasatnya diperlukan suatu usaha diversifikasi produk. Salah satunya dengan mengolahnya menjadi nugget (Lipotu, 2013: 39).

Ikan nike (*Awaous* sp.) memiliki komposisi proksimat yaitu 79,76% air, protein 16,89 %, lemak 0,76%, karbohidrat 0,3%, dan abu 1,93%. Konsentrasi tertinggi asam amino esensial ikan nike dikandung oleh leusin 1,153%, dan lisin 0,843%, sedangkan untuk asam amino non esensial konsentrasi tertinggi dikandung oleh asam amino

glutamat dan prolin yaitu 1,478% dan 0,821%. Kandungan asam lemak jenuh ikan nike yang dominan yaitu: asam palmitat 20,56%, asam stearat 7,31%, dan asam miristas 2,64%, sedangkan untuk asam lemak tak jenuh yaitu terdiri dari: asam dekosaheksanoat (DHA) 14,81%, asam oleat 8,50%, dan asam eikosapentanoat (EPA) 2,22% (Yusuf, 2011: 38). Adapun klasifikasi ikan nike adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Class	: Actinopterygii
Order	: Perciformes
Family	: Gobiidae
Genus	: Awaous
Species	: <i>Awaous</i> sp. (Bleeker, 1849)

C. Tinjauan Umum Tentang Variasi Genetik

Setiap makhluk hidup mempunyai ciri-ciri yang menunjukkan persamaan dan perbedaan. Hal ini terjadi karena setiap organisme memiliki susunan genetik yang unik yang mencerminkan ciri-ciri makhluk hidup yang hidup dalam suatu lingkungan dan kondisi tertentu. Ciri-ciri tersebut ditentukan oleh satu atau sekelompok gen, serta gabungan antara gen dan faktor lingkungan (Sofro, 1994 *dalam* Sahabuddin, 2014:18).

Makhluk hidup memiliki suatu sifat yang dapat dibagi menjadi dua kelompok, yaitu *fenotipe* dan *genotipe*. *Fenotipe* adalah sifat-sifat suatu makhluk hidup yang dapat di amati, miasalnya bentuk dan ukuran sel, warna sirip, dan sebagainya. *Genotipe* adalah komposisi genetik suatu makhluk hidup. *Genotipe* pada dasarnya mempunyai sifat-sifat yang tetap selama kehidupan makhluk hidup dan relatif tidak akan berubah oleh faktor lingkungan, kecuali pada keadaan ekstrim. Sedangkan

fenotipe dapat berubah selama kehidupan makhluk hidup karena *fenotipe* merupakan resultan dari sifat-sifat genetik (*genotipe*) dan faktor-faktor lingkungan. *Fixity* (ketetapan) *genotipe* tidak selalu berarti fenotipenya juga tetap. Di samping itu, satu *genotipe* tunggal dapat dimanifestasikan dalam berbagai macam fenotipe, tergantung pada lingkungannya. Sebaliknya, satu *fenotipe* dapat dihasilkan oleh lebih dari satu set *genotipe* (Yuwono, 2005: 39).

Menurut (Sofro, 1994 dalam Sahabuddin, 2014:18), secara genetik tidak ada dua individu dalam satu spesies yang persis sama. Dua individu meskipun merupakan anggota spesies yang sama, keduanya dapat berbeda karena variasi berbagai faktor, diantaranya adalah faktor genetik, umur, jenis kelamin, makanan, habitat dan lain-lain.

Populasi merupakan sekelompok organisme sejenis yang berada di ruang dan waktu yang sama. Keberadaan populasi di alam bersifat dinamis, dapat berkembang atau menghilang melalui kelahiran, kematian, migrasi atau menyatu dengan populasi lain (Kurniawirawan, 2007: 4).

Variasi merupakan suatu fenomena umum yang terdapat pada suatu populasi. Variasi di dalam populasi terjadi diakibatkan karena adanya keragaman di antara individu yang menjadi anggota populasi, yaitu adanya perbedaan ciri-ciri mengenai suatu karakter atau beberapa karakter yang dimiliki oleh individu-individu di dalam populasi. Variasi merupakan ciri-ciri umum yang terdapat di dalam suatu populasi. Variasi yang dimiliki suatu populasi dengan populasi yang lain bisa dan sering tidak sama. Ciri variasi dari suatu populasi dapat menjadi ciri tertentu populasi tersebut yang membedakan populasi tersebut dengan populasi yang lain dalam satu spesies. (Handiwirawan, 2006: 138). Keragaman terjadi tidak hanya antar bangsa, tetapi keragaman dapat terjadi pada beberapa tingkat, yaitu keragaman di dalam individu,

diantara individu di dalam populasi, atau diantara populasi di dalam satu spesies (Mahmud, 2014: 10).

Keragaman (*polimorfisme*) didefinisikan sebagai suatu hal yang dapat diwariskan dan dapat dideteksi pada suatu lokus. Dalam analisis genomik, suatu fragmen DNA dikatakan polimorfik apabila keragaman genetiknya lebih besar atau sama dengan 1% ($\geq 1\%$). Keragaman genetik $\geq 1\%$ tidak termasuk keragaman yang disebabkan oleh mutasi spontan yang terjadi di dalam suatu famili atau karena mutasi spontan yang diwariskan. *Polimorfisme* merupakan perbedaan yang diwariskan yang ditemukan di antara individu dalam suatu populasi (Irmawati, 2003: 9).

Tingkat keragaman individu dalam populasi maupun antar populasi menggambarkan status keberadaan spesies tersebut di alam. Tingkat keragaman rendah menunjukkan penurunan dalam populasi efektif di alam akibat terjadinya *in breeding* (Rina, 2001: 9).

Banyak perbedaan-perbedaan biokimia yang diatur secara genetik telah ditemukan di dalam cairan tubuh dan sel-sel hewan. *Polimorfisme* biokimia yang diatur secara genetik berguna membantu penentuan asal-usul dan menyusun hubungan *filogenetis* antara spesies atau kelompok-kelompok dalam spesies (Bowditch et al., 1987 dalam Sahabuddin, 2014: 18).

Keragaman genetik merupakan tingkatan paling rendah dalam keragaman hayati. Genetik adalah variasi dari berbagai aspek biokimia, struktur dan sifat organisme yang diturunkan secara fisik dari induknya. Genetik dibentuk dari DNA (*Deoxyribonucleic acid*) yang berbentuk molekul-molekul yang terdapat pada hampir semua sel (Veriana, 2014: 18).

Keragaman genetik suatu populasi mempunyai arti penting, karena faktor inilah yang akan mempengaruhi respon populasi tersebut terhadap seleksi baik alam

maupun seleksi buatan yang dilakukan oleh manusia. Individu dengan keragaman genetik tinggi akan mempunyai komponen *fitness* yang besar (laju pertumbuhan, *fekunditas*, *viabilitas*, daya tahan terhadap perubahan lingkungan dan tingkat stress) (Asphama, 2014: 23). Keragaman genetik yang rendah akan mempengaruhi kemampuan spesies untuk dapat memberikan respon terhadap perubahan lingkungan baik buatan maupun alami (Soewardi, 2007 dalam Lante, 2010: 21).

Variasi genetik menggambarkan adanya keragaman dalam satu spesies. Adanya keragaman terlihat dari beberapa karakteristik, baik dari dalam (*genotipe*) yaitu variasi secara molekuler yang berkaitan dengan variasi di dalam protein dan bahan genetik (DNA) maupun dari luar (*fenotipe*) (Hayuningtyas, 2010: 573).

Variasi di dalam DNA, protein dan *fenotipe* dari suatu individu berkaitan erat. Bahan genetik yang terdapat di dalam sel melalui transkripsi dan translasi diekspresikan informasinya dalam beberapa bentuk terutama rangkaian asam amino (polipeptida) yang mempunyai berbagai fungsi di dalam metabolisme tubuh, hasil dari metabolisme tersebut adalah *fenotipe* yang menjadi ciri dari individu tersebut. (Handiwirawan, 2006: 138).

Variasi dapat dikaitkan dengan taksonomi di mana penggolongan suatu organisme adalah berdasarkan banyaknya kesamaan yang dimiliki kelompok organisme dibandingkan dengan kelompok yang lain. Keragaman yang dimiliki suatu populasi juga tidak selalu sama dari waktu ke waktu dan dari generasi ke generasi. Populasi dengan variasi genetik yang tinggi memiliki peluang hidup yang lebih tinggi, karena tingkat adaptasi terhadap perubahan lingkungan semakin besar disebabkan karena banyaknya alternatif gen atau kombinasi yang tersedia untuk merespon perubahan kondisi lingkungan yang dihadapi (Simatupang, 2012: 3).

Variasi genetik dapat muncul karena mutasi, seleksi alam, pengaruh lingkungan, dan perkawinan. Faktor tersebut dapat menyebabkan terjadinya perubahan susunan genetik individu dan selanjutnya menjadi susunan genetik populasi yang terbentuk oleh individu genetik tersebut (Bowditch., 1987 *dalam* Sahabuddin, 2014: 18).

Faktor yang mempengaruhi keragaman genetik yaitu faktor yang menyebabkan penambahan gen atau meningkatkan keragaman genetik antara lain mutasi dan migrasi, sedangkan faktor yang menurunkan keragaman genetik meliputi seleksi alami dan penghanyutan genetik (Asphama, 2014: 24).

Adanya variasi di dalam suatu populasi adalah sebagai hasil dari adanya kekuatan yang menghasilkan variasi dan kekuatan yang memelihara variasi dan menyebabkan organisme beradaptasi dengan baik terhadap lingkungannya. Variasi di alam dipengaruhi oleh empat faktor dimana untuk membedakannya merupakan pekerjaan yang tidak mudah dan dalam beberapa kasus malah tidak mungkin dilakukan. Keempat faktor tersebut adalah variasi yang meningkat sebagai hasil dari mutasi yang berulang. Variasi yang meningkat karena adanya aliran gen dari populasi yang lain (migrasi). Variasi yang meningkat karena proses stokastik seperti *genetic drift*, dan faktor keempat adalah variasi yang bertahan di dalam populasi oleh adanya seleksi (Handiwirawan, 2006: 139).

Seleksi alam merupakan kemampuan susunan genetik individu untuk beradaptasi dengan lingkungannya. Seleksi alam penting dalam menentukan suatu mutasi dan akan tercermin dalam susunan genetik pada suatu anggota populasi untuk bertahan hidup (Sofro, 1994 *dalam* Sahabuddin, 2014: 18).

Gen merupakan dasar dari makhluk hidup. Gen membawa informasi biologi, yang disalurkan melalui bentuk *fenotipe* spesies dan diturunkan ke generasi

berikutnya. Struktur genetik pada suatu populasi berperan penting dalam penyusunan strategi konservasi. Struktur genetik populasi penting untuk diketahui agar dapat ditentukan apakah suatu populasi dikelola sebagai unit manajemen berbeda atau tidak, karena apabila hal ini tidak dilakukan dapat menimbulkan dampak yang kurang baik pada populasi tersebut. Struktur genetik dapat diungkap dengan materi genetik berupa protein dan DNA (Putralaksana, 2014: 1).

Keragaman hayati pada tingkat gen dapat terancam oleh tiga hal yaitu kepunahan dari populasi atau spesies, yang berdampak pada hilangnya gen-gen secara permanen, *hibridisasi* yang dapat menyebabkan terjadinya kombinasi gen-gen yang berasal dari spesies yang berbeda yang menyebabkan hilangnya kemampuan beradaptasi terhadap perubahan lingkungan, dan pengurangan atau penurunan keragaman genetik intra populasi (Soewardi 2007 *dalam* Lante, 2010: 21).

Perubahan frekuensi gen pada individu varian pada dasarnya adalah penyimpangan dari hukum kesetimbangan Hardy-Weinberg. Prinsip hukum Hardy-Weinberg menegaskan bahwa dalam populasi yang besar dimana tidak terjadi seleksi, tidak terjadi imigrasi, tidak terjadi mutasi, dan perkawinan tidak terjadi secara acak, frekuensi gen dan *genotipe* akan tetap sama dari generasi kegenerasi berikutnya. Fluktuasi frekuensi gen (*genetic drift*) pada populasi yang besar, pengaruhnya dapat diabaikan. Namun kondisi ini dapat berubah dengan adanya sistem perkawinan sekerabat (*In breeding*) dan perkawinan acak (*Out breeding*). Perkawinan sekerabat akan menghasilkan turunan dengan keadaan homozigot yang meningkat. Sebaliknya perkawinan acak menimbulkan keadaan heterozigot (Sahabuddin, 2014:18).

Indeks similaritas (*Indentities*) merupakan suatu proporsi kesamaan profil DNA organisme intra atau inter populasi (Parenrengi, 2006: 2). Selanjutnya dikatakan semakin tinggi indeks similaritas semakin kecil variasi genetiknya atau dengan kata

lain semakin kecil jarak genetiknya, merupakan kekerabatan yang dekat dalam suatu populasi tersebut. Semakin tinggi Indeks similaritasnya mencerminkan semakin jauh hubungan kekerabatannya (Rogers, 1972 *dalam* Lante, 2010: 23).

Jarak genetik (*Genetic distance*) merupakan ukuran perbedaan genetik antar populasi yang dihitung berdasarkan frekuensi alel (Asphama, 2014: 25). Menurut (Widiyati, 2003: 8) menyatakan jarak genetik merupakan ukuran perbedaan genetik antara populasi yang dihitung berdasarkan frekuensi *haplotype* setiap populasi, sedangkan (Rina 2001: 9) menyatakan bahwa jarak genetik adalah derajat perbedaan gen antara spesies atau populasi yang diukur dengan metode *numerik*. Jumlah rata-rata perbedaan kodon atau nukleotida per gen adalah pengukur jarak genetik.

D. Tinjauan Umum Tentang DNA (*Deoxyribonucleic acid*)

Komponen sel jasad hidup terdiri atas bermacam-macam molekul. Berdasarkan atas ukurannya yaitu molekul kecil dan makromolekul. Molekul kecil memiliki berat kurang dari seribu seperti asam-asam amino, nukleotida dan monosakarida, makromolekul mempunyai berat molekul yang sangat tinggi seperti asam nukleat, protein dan polisakarida. Makromolekul mempunyai peranan yang sangat penting bagi jasad hidup, sifat genetik jasad hidup tersimpan di dalam untaian DNA yang merupakan polimer nukleotida (Yuwono, 2005: 22).

Kromosom merupakan struktur seperti benang pada nukleus sel eukariotik yang nampak pada saat sel mulai membelah, ditemukan pada awal abad ke-19. Pada organisme diploid, kromosom berjumlah diploid (2 set) pada setiap selnya. Gen merupakan bagian unit hereditas suatu organisme hidup yang terdapat di dalam kromosom, gen dikode dalam genetik pada organisme hidup sebagai molekul DNA (Fatchiyah, 2011: 12).

Secara bahasa, *Deoxyribonucleic acid* (DNA) tersusun dari kata “*deocyribosa*” yang berarti gula pentosa, “*nucleic*” yang lebih dikenal dengan nukleat berasal dari kata “*nucleus*” yang berarti inti serta “*acid*” yang berarti asam. DNA atau *Deoxyribonucleic acid* merupakan persenyawaan kimia yang paling penting pada makhluk hidup, yang membawa keterangan genetik dari sel khususnya atau dari makhluk dalam keseluruhannya dari satu generasi ke generasi selanjutnya (Suryo, 2010: 57).

Seorang ahli ilmu kimia berkebangsaan Jerman bernama Friederich Miescher pada tahun 1869 menyelidiki susunan kimia dari nukleus sel. Ia mengemukakan bahwa *nucleus* sel tidak terdiri dari karbohidrat, protein ataupun lemak, melainkan terdiri dari zat yang mempunyai kandungan fosfor yang sangat tinggi. Oleh karena zat itu terdapat dalam *nucleus* sel, maka zat itu disebut *nuklein* dan nama ini kemudian lebih dikenal dengan asam nukleat dikarenakan asam juga ikut menyusunnya. Asam nukleat ini terdiri dari dua tipe, yaitu asam deoksiribonukleat (*deoxyribonucleic acid* atau disingkat DNA) dan asam *ribonucleat* (*ribonucleic acid* atau disingkat RNA) (Suryo, 2005: 25). Selanjutnya pada akhir abad ke- 19 telah berhasil dilakukan pemisahan antara DNA dan RNA dari protein-protein yang melekatkan molekul asam nukleat tersebut pada sel. Pada awal tahun 1930-an, P. Levene, W. Jacobs, dan kawan-kawan menunjukkan bahwa RNA tersusun atas satu gugus gula ribosa dan empat basa yang mengandung nitrogen, sementara DNA tersusun atas gugus gula yang berbeda yaitu deoksiribosa (Yuwono, 2005: 49).

Secara umum struktur DNA mempunyai bagian yang disebut gen struktural yaitu rangkaian nukleotida yang menyusun spesifikasi urutan asam amino pada polipeptida. Gen tersebut diasosiasikan dengan unsur pengendali yang terlihat dalam pengaturan transkripsi yaitu urutan *promoter* dan *terminator*. Unsur pengendali

tambahan adalah operator, yang biasanya berasosiasi dengan operon. Gugus gula pada posisi 5' suatu nukleotida dapat mengikat gugus fosfat melalui ikatan ester membentuk suatu nukleotida, dimana nukleotida utama DNA adalah dAMP, dGMP, dTMP dan dCMP. Gugus fosfat satu nukleotida dapat berikatan ester dengan gugus hidroksil nukleotida lain melalui ikatan kovalen 3'-5' untuk membentuk molekul rantai panjang yang dikenal dengan polinukleotida DNA (Asphama, 2104: 15).

DNA adalah susunan kimia makromolekul yang terdiri dari tiga macam molekul, yaitu gula pentosa, asam pospat, dan basa nitrogen, yang sebagian besar terdapat dalam *nukleus* hidup. DNA mempunyai peranan sangat penting pada jasad hidup. DNA adalah polimer asam nukleat yang tersusun secara sistematis dan merupakan pembawa informasi genetik yang diturunkan kepada jasad keturunannya. Informasi genetik disusun dalam bentuk kodon (*Codon*) yang berupa tiga pasang basa nukleotida dan menentukan bentuk, struktur, maupun fisiologi suatu jasad (Yuwono, 2005: 51).

DNA mengandung informasi keturunan suatu makhluk hidup yang menyampaikan dan mentransfer informasi genetik, kemudian menerjemahkan informasi ini secara tepat. Adapun unit terkecil pembawa setiap informasi genetik disebut dengan gen, yang besarnya bervariasi tergantung dari jenis informasi yang dibawa untuk mengkode suatu protein (Muhtarom, 2009: 54).

Struktur DNA menurut Watson-Crick adalah *double helix* dengan diameter 2 nm. Ciri-ciri utama model DNA *double helix* menurut Watson dan Crick adalah (a) molekul DNA mengandung dua rantai polinukleotida yang terikat satu dengan yang lain dalam *helix* ganda putar kekanan, (b) diameter *helix* adalah 2 nm, (c) kedua rantai anti paralel, yaitu berorientasi dalam arah berlawanan, (d) kerangka gula fosfat berada disisi luar *helix*, basa terorientasi pada pusat sumbu, (e) basa rantai yang berlawanan

berikatan secara kovalen melalui ikatan hidrogen, (f) panjang satu putaran *helix* adalah 34°A dan jarak antar basa dalam *helix* adalah $0,34^{\circ}\text{A}$, sehingga dalam satu putaran *helix* terdapat 10 pasang basa, (g) dua rantai yang mengikat pasangan basa tidak berlawanan secara langsung karena tulang punggung gula fosfat tidak sama panjang, sehingga membentuk dua macam lekukan, yaitu lekukan besar dan lekukan kecil (Lante, 2010: 13).

Replikasi DNA dapat diartikan sebagai pembentukan molekul DNA baru yang berasal dari molekul DNA asal. Struktur DNA yang dikemukakan oleh Watson-Crick memiliki keistimewaan, yaitu kemampuan untuk duplikasi diri sendiri. Duplikasi DNA dimulai dari membukanya molekul induk, yaitu ikatan hidrogen antara pasangan basa lepas. Urutan basa pada masing-masing pita yang terbuka berperan sebagai cetakan yang mengatur pengikatan rangkaian basa komplementer pada pita baru yang dibentuk, yang tersusun atas *trifosfat deoksiribo nukleotida*. Nukleotida disusun dalam urutan yang komplementer dengan muatan basa pita induk yang berperan sebagai cetakan. Setiap C pada pita cetakan akan mengikat G pada pita yang baru demikian seterusnya. Sehingga terbentuk dua molekul DNA yang identik dengan molekul induk (Asphama, 2014: 17).

Semua makhluk hidup memiliki kandungan DNA. DNA sendiri terdapat di dalam sel, dimana bagian terbesar dari DNA terdapat didalam *nukleus*, terutama dalam kromosom. Di dalam kromosom inti sel terdapat DNA yang berbentuk untai ganda atau *double helix*. Apabila terjadi pembelahan inti sel, maka kromosom juga membelah dan demikian juga molekul DNA. DNA tidak hanya terdapat dalam kromosom akan tetapi juga ditemui pada sitoplasma dan mitokondria akan tetapi dengan kadar yang lebih sedikit dibandingkan dengan yang terdapat dalam kromosom (Muhtarom, 2009: 59).

Untai ganda DNA tersusun oleh dua rantai polinukleotida yang berpilin. Kedua rantai mempunyai orientasi yang berlawanan (antiparalel). Rantai yang satu mempunyai orientasi $5' \rightarrow 3'$, sedangkan rantai yang lain $3' \rightarrow 5'$. Kedua rantai tersebut berikatan. Kedua rantai tersebut berikatan dengan adanya ikatan hidrogen antara basa *adenine* (A) dengan *thymine* (T), dan antara *guanine* (G) dengan *cytosine* (C). Ikatan antara A-T berupa dua ikatan hidrogen, sedangkan anantara G-C berupa tiga ikatan hidrogen sehingga ikatan G-C lebih kuat (Suryo, 2005: 35).

DNA merupakan senyawa organik yang memiliki berat molekul (BM) paling besar dari semua senyawa organik (kurang lebih berjumlah 1 juta) yang ditemukan dalam kromatin inti sel ($>99\%$) dan dua organel sitoplasma ($<1\%$) mitokondria dan plastid (kloroplas) (Muhtarom, 2009: 60).

Asam nukleat tersusun atas nukleotida, yang bila terurai terdiri dari gula, pospat dan basa yang mengandung nitrogen. Karena banyaknya nukleotida yang menyusun molekul DNA, maka molekul DNA merupakan suatu polinukleotida (Suryo, 2005: 30).

DNA merupakan susunan kimia makromolekul yang kompleks, yang terdiri dari 3 macam molekul yaitu gula pentosa, molekul gula yang menyusun DNA adalah sebuah pentose yaitu deoksribosa. Asam pospat dan basa nitrogen (Suryo, 2005: 59).

Menurut (Suryo, 2005: 30) Basa nitrogen yang menyusun molekul DNA terdiri atas dua tipe yang dibedakan menjadi:

1. Piramidin, basa ini dibedakan lagi menjadi dua yaitu sitosin yang dilambangkan dengan (S) dan timin yang dilambangkan dengan (T).
2. Purin, basa ini juga dibedakan menjadi dua yaitu yang terdiri dari adenin dilambangkan dengan (A) dan guanin yang dilambangkan dengan (G).

Komposisi DNA berbeda-beda antara satu spesies dengan spesies lainnya. Dalam DNA dari spesies apapun, jumlah DNA tidaklah sama akan tetapi hadir dalam rasio yang khas (Campbell, 2002: 301). Melalui hidrolisis DNA membuktikan bahwa pada berbagai macam makhluk ternyata banyaknya adenin selalu kira-kira sama dengan banyaknya timin ($A=T$) sama halnya dengan sitosin dan guanin ($S=G$). Dengan kata lain, dari penelitian Chargaff menyatakan bahwa perbandingan A/T dan G/C selalu mendekati satu (Suryo, 2005: 35).

DNA dalam sel yang ada dalam makhluk hidup, keberadaan antara pospat dan gula adalah sama, namun hanya jumlah basa yang membedakan. Keberadaan DNA berfungsi sebagai pengatur kehidupan sel dalam tubuh melalui dua proses yaitu replikasi yang berarti penggandaan dan transkripsi yang berarti mencetak. Replikasi adalah untuk perbiakan dan pembelahan sementara transkripsi berguna untuk mensintesa protein (Muhtarom, 2009: 64).

E. Tinjauan Umum Tentang Analisis Variasi Genetik

Reaksi berantai polimerase (*Polymerase Chain Reaction*) adalah suatu metode enzimatik untuk melipatgandakan secara eksponensial suatu sekuens nukleotida tertentu dengan cara *in vitro*. Metode ini sekarang telah banyak digunakan untuk berbagai macam manipulasi dan analisis genetik baik berupa molekul DNA maupun RNA (Asphama, 2014: 18).

Prinsip kerja PCR adalah sama dengan proses replikasi DNA secara *in vivo*. PCR adalah sebuah metode *in vitro* yang digunakan untuk mensintesa sekuens DNA tertentu secara enzimatik dengan menggunakan dua primer *oligonukleotida* yang menghibridisasi pita yang berlawanan dan mengapit daerah target DNA. PCR adalah metode yang sangat sensitif sehingga hanya dengan satu molekul DNA, dapat

diperbanyak dua kali lipat DNA dalam satu siklus suhu *denaturation*, *annealing* dan *extension* (Rina, 2001: 8)

PCR sangat peka dimana satu molekul DNA tunggal dapat diamplifikasi (Sudarmadji, 1996), selanjutnya dengan pewarnaan ethidium bromide dan penyinaran lampu ultra ungu akan ditampilkan sebagai pita-pita pada gel agarosa (Williams, 1990: 6531).

Proses PCR berlangsung dalam beberapa siklus, bergantung pada enzim polymerase, jumlah cetakan (*template*), dan bahan-bahan yang lain. Komponen utama pada proses *Polymerase Chain Reaction* (PCR) adalah DNA cetakan (*template*) atau DNA sampel; yaitu fragmen DNA yang akan dilipatgandakan. *Oligonukleotida* primer; yaitu suatu sekuen *oligonukleotida* pendek yang digunakan untuk mengawali sintesa rantai DNA, ddH₂O dan buffer PCR sebagai pelarut, *deoksiribonukleotida trifosfat* (dNTP), terdiri atas dATP, dCTP, dGTP, dTTP dan Enzim DNA *polymerase* yaitu enzim yang melakukan katalisis reaksi pemanjangan primer atau sintesis rantai DNA (Yuwono, 2006 dalam Asphama, 2014: 18). Proses PCR adalah proses enzimatis untuk memperbanyak DNA dengan memanfaatkan sifat replikasi DNA dan perubahan fisik DNA terhadap suhu. Proses ini dibantu dengan enzim Taq-DNA *polymerase* pada tahap ekstensi polinukleotida primer (Susilowati, 2008: 42).

Pemilihan primer oligonukleotida berguna untuk berantai *Polymerase Chain Reaction* (PCR), *oligohibridisasi* dan sekuensing DNA. Desain primer yang tepat adalah salah satu faktor yang paling penting pada langkah-langkah dalam suksesnya sekuensing DNA (Elsalam, 2003: 91).

Replikasi terjadi jika terdapat untai tunggal DNA yang bertindak sebagai cetakan dan basa *nukleotida* (dNTP). Enzim DNA *polymerase* membantu dalam pembentukan DNA untai lainnya. Sedangkan primer adalah potongan pendek DNA

terdiri dari 20-30 *nukleotida* yang melakukan hibridisasi pita secara berpasangan dengan sekuen tertentu yang mengapit (*flanking*) daerah DNA target amplifikasi pada tiap pita DNA (Rina, 2001: 8).

Proses PCR merupakan proses siklus yang berulang meliputi *denaturation*, *annealing*, dan *extension* oleh enzim DNA *polymerase*. Dasar siklus PCR meliputi Denaturasi, *annealing*, dan *extension*, waktu tergantung panjang pendeknya ukuran DNA yang diinginkan sebagai produk amplifikasi (Connor, 2005: 229).

Denaturasi merupakan proses terurainya atau terpisahnya ikatan ganda DNA *template* menjadi utas tunggal karena pemanasan. Tahap denaturasi DNA biasanya dilakukan pada kisaran suhu 92 – 95°C. Denaturasi awal dilakukan selama 1 – 3 menit diperlukan untuk meyakinkan bahwa DNA telah terdenaturasi menjadi utas tunggal. Denaturasi yang tidak berlangsung secara sempurna dapat menyebabkan utas DNA terputus. Tahap denaturasi yang terlalu lama dapat mengakibatkan hilangnya aktivitas enzim *polymerase* (Mansyah, 2012: 14). Denaturasi gel digunakan untuk mengenali ukuran dan bentuk (sekunder struktur) perbedaan asam nukleat. Konsentrasi denaturasi gel atau larutan polimer yang lebih rendah mengakomodasi beberapa pasangan basa untuk produk PCR dan DNA yang memiliki molekul lebih besar (Guttman, 2003: 449).

Satu segmen DNA pendek yang disebut primer dan diduga merupakan komplemen dari urutan DNA target, di *annealing* (ditempel) pada sampel target dengan cara penurunan temperatur (Sahabuddin, 2014: 24). *Annealing* merupakan proses penempelan primer. Tahap *annealing* primer merupakan tahap terpenting dalam PCR, karena jika ada sedikit saja kesalahan pada tahap ini maka akan mempengaruhi kemurnian dan hasil akhir produk DNA yang diinginkan. Faktor yang mempengaruhi tahap ini antara lain suhu *annealing* dan primer. Suhu *annealing* yang terlalu rendah

dapat mengakibatkan timbulnya pita elektroforesis yang tidak spesifik, sedangkan suhu yang tinggi dapat meningkatkan kespesifikan amplifikasi (Mansyah, 2012: 13).

Selanjutnya dengan menaikkan temperatur setelah *annealing* akan mengaktifkan Enzim DNA *polymerase* untuk proses perpanjangan (*Extension*) *annealed* primer (Sahabuddin, 2014: 24). *Extension* merupakan proses pemanjangan DNA. Dalam tahap ekstensi atau sintesis DNA, enzim *polymerase* bergabung bersama dengan *nukleotida* dan pemanjangan primer lengkap untuk sintesis sebuah DNA utas ganda. Reaksi ini akan berubah dari satu siklus ke siklus selanjutnya mengikuti perubahan konsentrasi DNA. Hasil sintesa DNA dalam satu siklus dapat berperan sebagai cetakan (*template*) pada siklus berikutnya sehingga jumlah DNA target menjadi berlipat dua pada setiap akhir siklus. Dengan kata lain DNA target meningkat secara eksponensial, sehingga setelah 30 siklus akan menjadi milyaran amplifikasi DNA target (Mansyah, 2012: 14).

Primer dibentuk spesial sebagai pelengkap susunan pada sisi wilayah amplifikasi. Bentuk diagram mewakili PCR yang meliputi lima langkah yaitu mengubah sifat dengan pemanasan (langkah 1), diikuti pendinginan membolehkan sintesis primer pendek pada pengikatan logam pada tiap untai pelengkap (langkah 2), primer lalu bisa menyebar dengan *polymerase* pengatur panas, menghasilkan bangunan tiruan (langkah 3), pemanasan dan pendinginan ini berputar pada ulangan waktu 20-40 (langkah 4), dalam tiap putaran, disintesa untai DNA baru menjadi bangunan selama ulangan berikutnya (langkah 5), jadi menghasilkan lebih amplifikasi *millio fold* dari susunan target asli (Sahabuddin, 2014: 24).

Campuran primer-*template* pada *PCR-mix* dibagi menjadi 4 sub-sampel, yang masing-masing dipakai sebagai subyek untuk reaksi perpanjangan primer dengan katalis enzim DNA *polymerase*. Keempat reagen tersebut mengandung

deoksinukleotida (dA, dC, dG, dan dT) + *dideoksinukleotida* tunggal (ddN, yaitu sebuah nukleotida yang kekurangan grup OH pada karbon ke tiga didalam *deoksinukleotida*). Perluasan urutan DNA menjadi dengan penempelan *nukleotida* ke 3'-OH bebas, sehingga ketika ddNTP telah tergabung kedalam pita yang sedang tumbuh, maka perluasan pita lebih lanjut akan terhenti. Molekul-molekul DNA yang berlainan dalam sub-sampel mencapai ukuran panjang yang bervariasi sebelum berakhir pada suatu basa khusus dan reaksi polimerisasi terjadi dibawah kondisi dimana penyatuan dNTP jarang dan acak (Sahabuddin, 2014: 24).

Pengaturan suhu pada mesin PCR, maka proses-proses yang mencakup denaturasi *template* penempelan primer dan perpanjangan primer oleh DNA *polymerase* akan menghasilkan pertambahan secara eksponensial fragmen-fragmen tertentu dari DNA target. Karena produk yang dihasilkan pada siklus pertama dapat bertindak sebagai *template* pada siklus berikutnya maka jumlah DNA target menjadi dua kali pada setiap siklus. Jadi, PCR sebanyak 20 siklus akan menghasilkan 220 penggandaan (Sahabuddin, 2014: 22).

Pada kondisi normal, DNA berada dalam keadaan heliks ganda. *Helix* ini terdiri atas dua utas tunggal DNA yang saling berpasangan dan terikat non-kovalen oleh ikatan hidrogen. Pada awal proses PCR, utas ganda ini didenaturasi pada suhu tinggi hingga menjadi utas tunggal. Selanjutnya suhu diturunkan untuk memungkinkan primer utas tunggal menempel pada daerah target. DNA *polymerase* kemudian digunakan untuk pemanjangan sekuen dengan bantuan suplai empat basa *nukleotida* (dNTP; Adenin, Guanin, Timin, dan Sitosin) dan *buffer*. Hasil amplifikasi dengan PCR dilanjutkan dengan elektroforesis (Rina, 2001: 8).

Pemanfaatan PCR telah mempermudah kajian genetik pada tumbuhan dan hewan. Analisis taksonomi dan evolusi dengan PCR telah memberikan manfaat pada

tumbuhan dan hewan dalam sidik jari DNA, analisa forensik, pemetaan genetik dan studi filogenetik (Toha, 2001 *dalam* Sahabuddin, 2014: 21).

PCR berperan banyak merevolusi beberapa teknik biologi molekuler standar, dengan cara memodifikasi rancangan prosedur aslinya untuk kemudian disesuaikan dengan tujuan yang diinginkan (Williams et al. 1990 *dalam* Sahabuddin, 2014: 24). Perkembangan teknologi molekuler telah banyak membantu dalam menghasilkan data tentang variasi genetik pada tingkat DNA. Teknik molekuler yang biasanya digunakan untuk variasi genetik pada tingkat DNA adalah *Random Amplified Polymorphism DNA* (RAPD), *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP), analisis keragaman genetik berdasarkan DNA mikrosatelit, dan peruntutan DNA (*DNA sequencing*) (Ningtiyas, 2014: 16).

Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD) adalah amplifikasi DNA secara *in vitro* dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang bertujuan untuk mendeteksi polimerfisme pada tingkat DNA. Polimerfisme adalah perbedaan bentuk dan struktur dasar yang sama (Kirby, 1995 *dalam* Asphama, 2014: 21). Hal ini dapat terjadi karena adanya perubahan susunan pasangan basa yang disebabkan oleh penyisipan atau penambahan pasangan basa atau pengurangan basa tertentu (Pasternak, 1994 *dalam* Asphama, 2014: 21). Metode ini dikembangkan oleh (Welsh, 1990: 7213) dengan cara mengkombinasikan teknik PCR menggunakan primer-primer dengan sekuen acak untuk keperluan amplifikasi lokus acak dari genom (Rafalski et al. 1991 *dalam* Sahabuddin, 2014: 21).

Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD) adalah suatu metode standar dari *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang digunakan untuk mendeteksi perbedaan polimorfik DNA yang ada antara spesies atau antara individu. Penanda molekuler RAPD yang digunakan merupakan sekuen DNA polimorfik yang dipisahkan oleh gel

elektroforesis PCR menggunakan satu primer oligonukleotida pendek secara acak. Metode RAPD memiliki beberapa keunggulan diantaranya mampu mendeteksi sekuen nukleotida hanya dengan satu primer, *polimorfisme* tinggi, dan dapat digunakan tanpa mengetahui latar belakang genom sebelumnya (Simatupang, 2012: 3).

Dasar dari teknik PCR-PAPD adalah penggunaan primer tunggal yang berupa oligonukleotida pendek dengan urutan basa secara acak untuk mengamplifikasi sekuen target secara acak pula dari suatu *template* DNA yang kompleks. Penanda RAPD dapat digunakan untuk membuat peta sifat dan sidik jari individu (Rafalski et al., 1991 dalam Sahabuddin, 2014: 21).

Urutan primer yang digunakan dalam metode RAPD tidak boleh lebih panjang dari 10 basa. Pada metode ini tidak di dibutuhkan penempelan primer ke DNA secara spesifik tetapi secara acak. Pemberian primer dengan konsentrasi tinggi dapat menyebabkan penempelan ada sekuens DNA yang salah, tetapi primer berkonsentrasi rendah dapat mengakibatkan kegagalan dalam proses PCR karena hasil amplifikasi yang akan diperoleh sangat sedikit. Metode RAPD terdiri dari tiga bagian yaitu ekstraksi DNA, PCR dan elektroforesis. Ekstraksi DNA ialah memisahkan DNA dari molekul-molekul lain yang ada dalam jaringan dengan bantuan senyawa kimia, sehingga diperoleh DNA *template* yang murni. PCR merupakan suatu reaksi *in vitro* untuk menggandakan jumlah molekul DNA pada target tertentu dengan cara mensintesis molekul DNA yang baru berkomplemen dengan molekul DNA target tersebut dengan bantuan enzim oligonukleotida sebagai primer dalam suatu *thermocycler*. Tahap terakhir dari metode RAPD adalah elektroforesis yaitu proses Bergeraknya DNA yang diakibatkan oleh perbedaan berat molekul. Molekul DNA bermuatan negatif sehingga apabila ditempatkan dalam medan listrik, maka molekul

tersebut akan bermigrasi ke kutub positif dengan kecepatan yang berbeda (Kurniawirawan, 2007: 5).

Metode RAPD mempunyai keunggulan antara lain: kesederhanaan tekniknya, tidak dibutuhkan pengetahuan latar belakang genom organisme, amplifikasi banyak lokus dapat dipisahkan secara elektroforesis pada gel agarose dengan pewarnaan ethidium bromide, dan untuk mengidentifikasi spesies ikan dan moluska (Liu, 2004: 11). Sedangkan (Soewardi, 2007 dalam Lante, 2010: 16) mengemukakan bahwa RAPD adalah 17 suatu aplikasi standar dari PCR yang digunakan untuk mendeteksi perbedaan polimorfik DNA yang ada antara spesies atau antar individu.

Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) merupakan teknik yang banyak digunakan dalam mempelajari variasi inter maupun antar spesies dengan memanfaatkan enzim restriksi. Teknik ini dapat mendeteksi adanya variasi genetik dengan akurat. Posisi dan besarnya variasi dapat diperkirakan dengan tepat (Lelana, 2003: 5).

Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) merupakan teknik PCR yang dikembangkan untuk memvisualisasikan perbedaan runutan *nukleotida* DNA menggunakan enzim restriksi. Enzim restriksi bersifat spesifik, yaitu suatu jenis enzim hanya akan memotong runutan *nukleotida* yang dikenalnya (situs restriksi). Profil fragmen hasil pemotongan menggambarkan variasi runutan nukleotida situs restriksi. Dengan kata lain, perbedaan runutan nukleotida pada setiap fragmen DNA akan menghasilkan pola pemotongan yang berbeda. Fragmen DNA hasil pemotongan tersebut dapat dipisahkan dengan elektroforesis melalui matriks gel yang berbentuk pita-pita dan divisualisasikan dengan gel dokumentasi. Berdasarkan perbedaan panjang pita yang dihasilkan dapat diketahui variasi genetik antar individu dan populasi (Ningtiyas, 2014: 17).

Mikrosatelit merupakan rangkaian pola nukleotida antara dua sampai enam pasang basa yang berulang secara berurutan. Mikrosatelit biasa digunakan sebagai penanda genetik untuk menguji kemurnian galur, studi filogenetik, lokus pengendali sifat kuantitatif dan forensik. Mikrosatelit diamplifikasi menggunakan teknik PCR dengan beberapa pasang mikrosatelit. Hasil PCR dideteksi menggunakan teknik *Polyacrylamide Gel Electrophoresis* (PAGE) yang dilanjutkan dengan pewarnaan perak (Mulyadiana, 2010: 10).

Satelit-satelit DNA dengan unit ulangan pendek (1-6 bp), yang merupakan tipe umum repetitif DNA kadangkala disebut “satelit ulangan sederhana” atau mikrosatelit. Sekuen mikrosatelit cukup sederhana, motif sekuen berulang secara tandem dari mono, di- hingga tetra- nukleotida serta diapit oleh sekuen yang unik. Sekuen mikrosatelit telah menjadi data yang paling banyak dimasukkan pada bank data EMBL/GenBank. Mikrosatelit biasanya dibedakan dengan minisatelit pada derajat pengulangan sekuennya, dimana pada minisatelit ulangannya lebih sederhana dibandingkan mikrosatelit. Demikian pula panjang unit ulangan biasanya lebih panjang (dua hingga ratusan pada tiap lokus), sedangkan derajat ulangan minisatelit ditentukan pula berdasarkan “sekuen intinya” sebagaimana pada mikrosatelit (Mahmud, 2014: 22).

Menurut (Mulyadiana, 2010: 10) Ada beberapa permasalahan dalam penggunaan penanda mikrosatelit. Permasalahan ini dapat dikelompokkan kedalam problem teknis praktis dan problem data.

1. Problem praktis meliputi:

- a. Pemilihan primer untuk mikrosatelit, banyak jenis primer yang telah didesain untuk analisis mikrosatelit pada tanaman. Primer-primer itu perlu diskriminasi dan dioptimasi sebelum diaplikasikan pada jenis tanaman tertentu, karena setiap tanaman mempunyai karakteristik spesifik yang berbeda satu sama lain.

- b. *Slippage* selama proses amplifikasi, *thermopolymerase* dapat *slip* sehingga menghasilkan produk yang berbeda dalam ukurannya.
 - c. Ukuran produk amplifikasi berbeda dari ukuran produk sebenarnya. Ketidakakuratan dalam identifikasi alel mungkin juga disebabkan oleh Taq polymerase yang menambah nukleotida adenosin sampai ujung 3' produk amplifikasi.
2. *Homoplasi* adalah salah satu problem data. Homoplasi didefinisikan ketika dua alel dalam keadaan sama, tetapi tidak sama secara keturunan. Homoplasi mungkin menyebabkan problem dalam analisis studi genetika populasi, dimana dapat mempengaruhi pengukuran keragaman genetika, aliran gen, jarak genetika, metode penetapan dan analisis filogenetika.

Elektroforesis merupakan proses Bergeraknya molekul bermuatan pada suatu medan listrik. Kecepatan molekul yang bergerak pada medan listrik tergantung pada muatan, bentuk dan ukuran. Dengan demikian elektroforesis dapat digunakan untuk separasi makromolekul (seperti protein dan asam nukleat). Media pendukung yang digunakan dalam elektroforesis tergantung pada jenis elektroforesis misalnya protein serum, enzim, lipoprotein (Azim, 2004: 40).

Untuk pekerjaan analitik, medium biasanya berupa gel ataupun beberapa zat padat lain yang berpori. Molekul yang memiliki muatan yang sama masih memiliki imbalan muatan atau massa karena perbedaan berat molekulnya. Perbedaan ini menyebabkan perbedaan penyebaran apabila campuran ion dalam larutan diberikan medan listrik. Prinsip ini digunakan dalam teknik pemisahan secara elektroforesis (Sudarmadji, 1996 dalam Sahabuddin, 2014: 25).

Elektroforesis biasanya memerlukan media penyangga sebagai tempat bermigrasinya molekul-molekul biologi. Media penyangganya bermacam-macam tergantung pada tujuan dan bahan yang akan dianalisa. Media penyangga yang sering

dipakai dalam elektroforesis antara lain yaitu kertas, selulosa, asetat dan gel. Gel *poliakrilamid* dan agarosa merupakan matriks penyangga yang banyak dipakai untuk separasi protein dan asam nukleat. Mekanisme dasar pengolahan gel biasanya terdiri atas tiga langkah dasar yaitu deteksi pita, pencocokan pita dan kuantifikasi dan perbandingan. Ketiga langkah ini sangat tergantung pada metode elektroforesis. Otomatisasi terpadu untuk metode yang berbeda dari gel elektroforesis (protein, PCR DNA / RNA fragmen, DGGE, TGGE, dan lain-lain (Skutkova, 2013: 1609).

Fragmen DNA yang lebih kecil berat molekulnya akan berjalan lebih cepat dari molekul DNA yang lebih besar. Selanjutnya dikatakan 20 molekul DNA di dalam gel bergerak mengikuti arus listrik dari kutub negatif (-) menuju kutub (+). Sampel harus dilarutkan dalam suatu buffer agar terjadi pemisahan secara elektroforesis (Lante, 2010: 19).

Medium yang digunakan dalam pemisahan secara elektroforesis dapat berupa gel, yaitu bahan koloid yang setengah padat, tidak larut dalam air tapi bersifat hidrofil. Gel mampu menyaring molekul dari jendalan agak padat, sehingga bermanfaat untuk memisahkan ion besar seperti protein yang memiliki muatan sama tetapi berbeda dalam ukuran dan bentuk molekulnya (Sudarmadji, 1996 *dalam* Sahabuddin, 2014: 25).

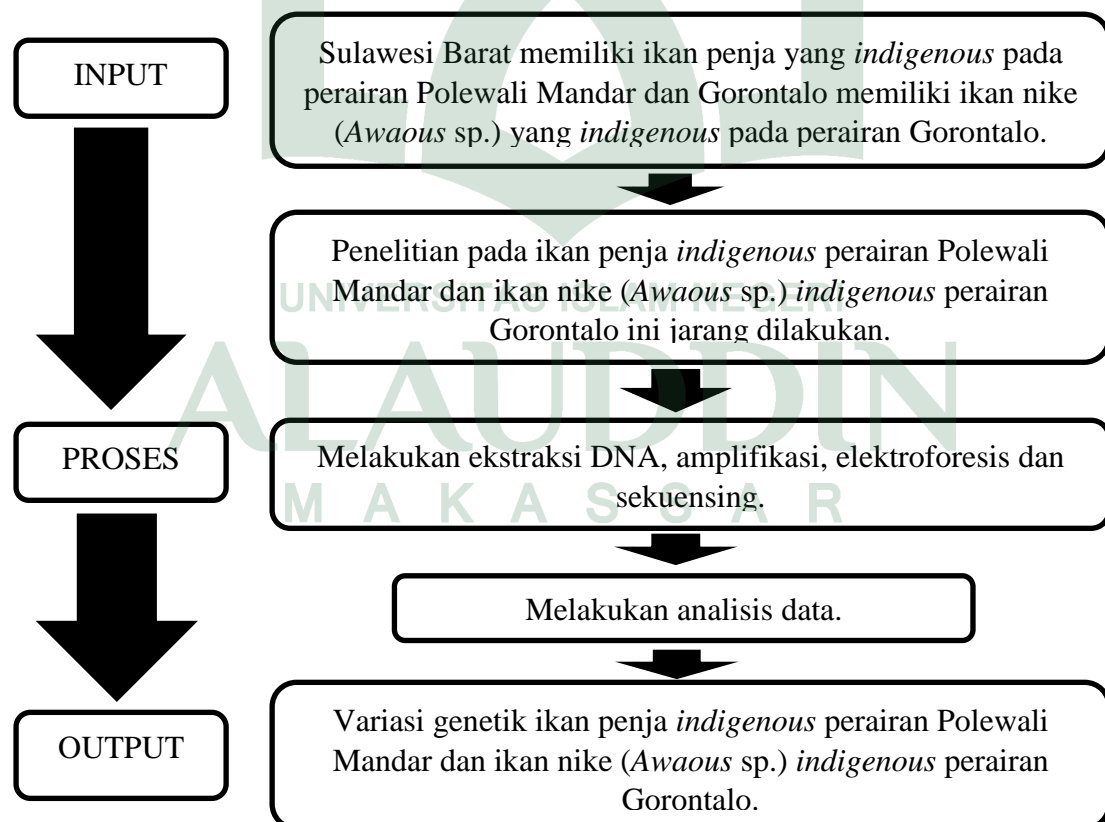
Agarosa murni banyak dipakai untuk memisahkan asam nukleat dan protein bermolekul besar karena tidak bersifat menyaring molekul dan tidak bersifat *elektroosmosis*. Agar-agar larut dalam larutan *buffer* pada suhu diatas 40°C dan berbentuk jendalan pada suhu sekitar 38°C (Sahabuddin, 2014: 25)

Pada saat elektroforesis berlangsung, protein akan bergerak dari *elektroda* negatif menuju *elektroda* positif sampai pada jarak tertentu pada gel *poliakrilamid* tergantung pada berat molekulnya. Semakin rendah berat molekulnya maka semakin

jauh pula protein bergerak atau mobilitasnya tinggi. Sebaliknya protein dengan berat molekul lebih besar akan bergerak pada jarak yang lebih pendek atau mobilitasnya rendah (Asphama, 2014: 23).

Hasil elektroforesis akan didapatkan pita-pita protein yang terpisahkan berdasarkan berat molekulnya. Tebal tipisnya pita yang terbentuk dari pita protein menunjukkan kandungan atau banyaknya protein yang mempunyai berat molekul yang sama yang berada pada posisi pita yang sama. Hal ini sejalan dengan prinsip pergerakan molekul bermuatan, yakni molekul bermuatan dapat bergerak bebas di bawah pengaruh medan listrik, molekul dengan muatan dan ukuran yang sama akan terakumulasi pada zona atau pita yang sama atau berdekatan (Mansyah, 2010: 15).

F. Kerangka Pikir



BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kualitatif non eksperimental dengan model eksploratif untuk mengetahui variasi genetik dari ikan penja *indigenous* perairan Polewali Mandar dan ikan nike (*Awaous* sp.) *indigenous* perairan Gorontalo dengan menggunakan metode *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD). Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Rumah Sakit Universitas Hasanuddin pada bulan April 2016.

B. Populasi dan Sampel

Pada penelitian yang dilakukan, ikan penja dan ikan nike (*Awaous* sp.) merupakan populasi. Sedangkan sampelnya adalah seluruh bagian tubuh dari ikan penja dan ikan nike (*Awaous* sp.).

C. Variabel Penelitian

Penelitian ini memiliki variabel tunggal. Variasi genetik dari ikan penja *indigenous* perairan Polewali Mandar dan ikan nike (*Awaous* sp.) *indigenous* perairan Gorontalo merupakan variabel dalam penelitian ini.

D. Definisi Operasional Variabel

Variasi genetik menggambarkan adanya keragaman dalam satu spesies, analisis variasi genetik dapat digunakan untuk menduga hubungan kekerabatan

menggunakan *Polimerase Chain Reaction* (PCR). Salah satu metode yaitu *Random Amplified Polymorphism DNA* (RAPD). RAPD adalah suatu metode standar dari *Polimerase Chain Reaction* (PCR) yang digunakan untuk mendeteksi perbedaan polimorfik DNA yang ada antara spesies atau antara individu.

E. Metode Pengumpulan Data

Metode pengumpulan data yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu dengan cara *observasi* (pengamatan) di dalam laboratorium.

F. Instrumen Penelitian (Alat dan Bahan)

1. Alat

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, spatula, freezer -20°C, cutter, neraca analitik, aluminium foil, laminar air flow, vortex, water bath, spons, mikropipet, tabung eppendorf/tabung sentrifuge (*tube*), sentrifuge, spin column, collection tube, rak tip, spidol marker, mesin PCR (*Polimerase Chain Reaction*) BioRad T100 Thermal Cycler, tabung PCR, Profuge Gk-Centrifuge, labu erlenmeyer, hot plate, stirrer, gunting, beaker glass, gelas ukur, satu set alat elektroforesis, kotak elektroforesis, Sub Cell GT Electroforesis System, power supply, gel document, kamera, stopwatch, dan komputer.

2. Bahan

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan penja *indigenous* perairan Polewali Mandar dan ikan nike (*Awaous sp.*) *indigenous* perairan Gorontalo, air, tip, filter tips, aquades, isolasi bening, sarung tangan, alkohol 96 %, tissue, satu set gSYNC™ DNA Extraction Kit (Geneaid), proteinase K (kinase), GST buffer, absolute ethanol, GSB buffer, W1 buffer, wash buffer, elution buffer, GoTaq®

Green Master Mix PCR, primer RAPD, agarosa, marker 100 bp, *loading dye*, *parafilm*, TBE *buffer*, *ethidium bromide*, satu set QIAquick® *Gel Extraction Kit* (Qiagen), *buffer* QG, *isopropanol* 100%, *buffer* PE, dan *buffer* EB.

G. Prosedur Kerja

1. Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dari organisme *eukaryote* dilakukan melalui penghancuran dinding sel (*lysis of cell walls*). Penghilangan protein dan RNA (*cell digestion*), pengendapan DNA (*precipitation of DNA*) dan pemanenan. Prinsip dasar ekstraksi DNA adalah serangkaian proses untuk memisahkan DNA dari komponen-komponen lainnya. Hasil ekstraksi tersebut merupakan tahapan penting untuk langkah berikutnya dan harus dilakukan dengan baik dan bebas kontaminasi (Lante, 2010: 15). DNA ikan diekstraksi dilakukan dengan mengacu pada pedoman intruksi *manual* oleh geneaid versi 02.12.14. Ekstraksi DNA menggunakan gSYNC™ *DNA Extraction Kit* (Geneaid, 2014) yang terdiri dari 5 tahap yaitu yaitu *tissue dissociation*, *cell lysis*, *DNA binding*, *wash*, dan *elution*. Menimbang sampel ikan segar sebanyak 0,25 gr/ 25 mg kemudian memasukkan ke dalam tabung sentrifuge (tube), menambahkan proteinase K sebanyak 20 µl dan GST *buffer* sebanyak 200 µl kemudian inkubasi di *water bath* dengan suhu 60°C selama 24 jam atau sampai ikan hancur. Setelah 24 jam inkubasi sampel di sentrifugasi selama 2 menit dengan kecepatan 14.000 rpm, memindahkan supernatant pada tube baru kemudian tambahkan 200 µl GSB *buffer* lalu *vortex* selama 10 detik (Geneaid, 2014: 4).

Menambahkan 200 µl *absolute ethanol* kemudian homogenkan, menyiapkan *spin column* dan *collection tube* kemudian memindahkan semua campuran tersebut ke dalam *spin column*, sentrifugasi pada 14.000 rpm selama 1 menit. Membuang

collection tube yang berada di bawah *spin column* dan mengganti dengan *collection tube* yang baru. Menambahkan 400 µl W1 *buffer* ke dalam *spin column* dan *collection tube* lalu sentrifuge dengan kecepatan 14.000 rpm selama 30 detik kemudian membuang cairan dan *collection tube* dan mengganti dengan *collection tube* yang baru. Menambahkan 600 µl *wash buffer* sentifuge selama 30 detik dengan kecepatan 14.000 rpm, lalu membuang cairan pada *collection tube* dan sentrifuge kembali selama 3 menit. Membuang *collection tube* dan meletakkan tabung sentrifuge (*tube*) steril pada bagian bawah *spin column*. Selanjutnya menambahkan 100 µl *Elution buffer* diamkan selam 3 menit kemuadian sentrifuge dengan kecepatan 14.000 rpm selama 30 detik kemudian membuang *spin column*. Menyimpan tabung sentrifuge (*tube*) pada -4°C untuk digunakan sebagai *template* PCR (Geneid, 2014: 5).

2. Amplifikasi

Proses amplifikasi DNA dilakukan menggunakan metode PCR. PCR *mix* menggunakan GoTaq® *Green Master Mix* PCR (Lampiran 2). Selanjutnya disentrifuge menggunakan *Profuge Gk-Centrifuge*. Setelah itu dimasukkan ke dalam mesin PCR dengan 45 siklus. Secara umum proses PCR terdiri dari 3 tahap yaitu denaturasi (penguraian utas ganda DNA), penempelan primer (*annealing*) dan pemanjangan utas DNA (elongasi). Pre-denaturasi selama 2 menit untuk aktivasi enzim *taq polymerase*, dan pada akhir PCR ditambahkan akhir sintesis 2 menit untuk menyakinkan semua hasil amplifikasi dalam bentuk untai ganda. Proses waktu, suhu dan jumlah siklus masing-masing tahapan PCR disajikan pada Tabel 3.1 (Asphama, 2014: 38).

Tabel 3.1. Deskripsi siklus, proses, suhu dan waktu dalam amplifikasi DNA genom ikan penja dan ikan nike (*Awaous* sp.)

Tahapan	Proses	Suhu	Waktu
I (1 Siklus)	Pre-Denaturasi	95°C	2 menit
II (45 Siklus)	Denaturasi	94°C	30 detik
	Penempelan (<i>Annealing</i>)	36°C	30 detik
	Pemanjangan (<i>Elongasi</i>)	72°C	1 menit.
III (1 Siklus)	Akhir sintesis	72°C	2 menit

Adapun primer yang digunakan adalah OPA-1, OPA-2, OPA-3, OPA-4, OPA-5, OPA-6, OPA-7, OPA-8 dan OPC-5 (Tabel 3.2) (Kumar, 2014: 112).

Tabel 3.2. Deskripsi sekuen primer RAPD pada amplifikasi DNA

Primer	Panjang Nukleotida	Sekuen Nukleotida (5' → 3')
OPA-1	10-mer	CAGGCCCTTC
OPA-2	10-mer	TGCCGAGCTG
OPA-3	10-mer	AGTCAGCCAC
OPA-4	10-mer	AATCGGGCTG
OPA-5	10-mer	AGGGGTCTTG
OPA-6	10-mer	GGTCCCTGAC
OPA-7	10-mer	GAAACGGGTG
OPA-8	10-mer	GTGACGTAGG
OPC-5	10-mer	GATGACCGCC

3. Elektroforesis

Agar yang digunakan adalah gel agarosa 2% (BioRad). Gel agarose dibuat dengan cara menimbang sebanyak 2 gr agarose bubuk dan melarutkan dengan 100 ml *Tris borate* EDTA (100 g Tris base, 27.5 g asam borat, 20 ml 0.5 M EDTA pH 8.0 dalam 1 liter air). Kemudian memanaskan dan sekaligus mengaduk di atas *hot plate* sampai larutan tersebut mendidih dan bewarna bening, kemudian ditambahkan

ethidium bromide 1 μ l setelah mendidih dan menghomogenkannya. Kemudian menuang ke dalam cetakan agar dan dibentuk sumur gel dengan menggunakan sisir gel. Membiarkan gel membeku dan sisir diambil dengan hati-hati. Gel kemudian ditempatkan pada alat/tangki *elektroforesis* yang berisi larutan TBE 0.5% dengan posisi sumur berada pada kutub negatif (Simatupang, 2012: 6).

Untuk mengetahui keberhasilan amplifikasi primer yang dicobakan, campuran 7 μ l hasil PCR dengan 3 μ l *loading dye* yang di homogenkan dengan cara *pipetting* dielektroforesis pada gel agarose 2% dalam larutan TBE 0,5%. Sebelum proses *elektroforesis* berlangsung, terlebih dahulu menambahkan *Gene Ruler* 100bp DNA *Loader*, yang digunakan sebagai standar untuk menentukan ukuran fragmen hasil amplifikasi. Untuk memulai proses *elektroforesis*. Elektroda dihubungkan dengan *power supply* kemudian dinyalakan selama 1 jam dengan tegangan 100 volt. Setelah itu, mematikan alat *elektroforesis* kemudian gel dari alat tersebut diambil. Gel dipindahkan kedalam *Gel document* kemudian mengamati hasilnya pada komputer (Simatupang, 2012: 6).

4. Sekuensing

Hasil dari amplifikasi yang menghasilkan fragmen DNA dengan kualitas yang baik kemudian dilakukana proses *Gel cut*. *Gel cut* dilakukan dengan mengacu pada pedoman intruksi *manual* oleh Qiagen. *Gel cut* dilakukan dengan menggunakan QIAquick® *gel Extraction Kit* (Qiagen, 2010) dengan cara memotong fragmen DNA dari gel agarose menggunakan pisau *cutter* steril kemudian memasukkan ke dalam tabung sentrifuge (tube) setelah itu menimbanginya, menambahkan *buffer* QG sebanyak 300 μ l lalu homogenkan dengan *vortex*. Kemudian inkubasi di *water bath* dengan suhu 50°C selama 10 menit selanjutnya menambahkan 1 volume (150 μ l) isopropanol (Qiagen, 2010).

Menyiapkan *spin column* dan *collection tube*, selanjutnya memindahkan sampel pada *spin column* dan *collection tube* yang telah disiapkan kemudian sentrifuge dengan kecepatan 14.000 rpm selama 1 menit, membuang cairan dan *collection tube* hasil sentrifuge kemudian menggantinya dengan *collection tube* yang baru. Menambahkan *buffer* QG sebanyak 500 μ l lalu sentrifuge selama 1 menit dengan kecepatan 14.000 rpm, membuang cairan dan *collection tube* hasil sentrifuge kemudian menggantinya dengan *collection tube* yang baru, menambahkan *buffer* PE sebanyak 750 μ l lalu sentrifuge selama 1 menit dengan kecepatan 14.000 rpm, kemudian memindahkan *spin column* pada tabung sentrifuge (*tube*), menambahkan 50 μ l dan sentrifuge dengan kecepatan 14.000 rpm selama 1 menit. Membuang *spin column* hasil sentrifuge. Menguji hasil ekstraksi pada gel agarosa 1% (BioRad).

Hasil ekstraksi gel yang baik kemudian dikirim ke PT. Genetika Science Indonesia yang kemudian akan dikirim ke *1st BASE sequencing INT* di Malaysia untuk proses sekuensing. Sekuensing DNA merupakan suatu metode untuk menentukan urutan-urutan basa nukleotida (A, C, G dan T) dalam suatu gen dan asam nukleat (Qiagen, 2010).

H. Analisis Data

Fragmen DNA hasil amplifikasi dari primer dan populasi diterjemahkan menjadi data biner dengan ketentuan pemberian nilai (2) untuk adanya fragmen DNA (*presence*) dan pemberian nilai (1) untuk tidak adanya fragmen (Lampiran 3). Data biner hasil skoring digunakan untuk menghitung jarak genetik dan menyusun dendrogram melalui analisis kluster (Lante, 2010: 32).

Keragaman genetik dianalisis menggunakan TFPGA (*Tools For Population Genetic Analysis*) (Miller, 2000). Hubungan kekerabatan antar individu dianalisis

dengan menggunakan jarak genetik berdasarkan analisis UPGMA (*Unweight Pair Methods Arithmetic*) dari software TFPGA (Simatupang, 2012: 8).

Prosedur pengolahan data adalah sebagai berikut: (1) penyusunan data dalam bentuk data biner (merupakan sistem yang berbasis dua angka 1 atau 2), (2) data biner diolah dengan menggunakan *software* TFPGA. Dalam pengolahan data menggunakan *software* ini akan diperoleh indeks similaritas (*Indentities*) dan jarak genetik (*Distance*). Selanjutnya (3) penggabungan kluster-kluster ditampilkan secara grafis dalam dendrogram. Kedekatan hubungan kekerabatan ditentukan oleh jarak genetik dan kedudukan aksesi-aksesi yang dibandingkan dalam dendrogram (Lante, 2010: 32).

Menurut (Akbar, 2014: 10), kategori nilai keragaman genetik, struktur populasi dan jarak genetik disajikan pada (Tabel 3.3).

Tabel 3.3. Kategori nilai keragaman genetik, struktur populasi dan jarak genetik

Analisis	Kategori			Sumber
	Rendah	Sedang	Tinggi	
Keragaman Genetik (H_d)	0.1-0.4	0.5-0.7	0.8-1.00	Nei, 1987
Struktur Populasi (F_{ST})	0.1-0.3	0.4-0.7	0.8-1.00	Exoffier, 1992
Jarak Genetik (D)	0.010-0.099	0.1-0.99	1.00-2.00	Nei, 1992

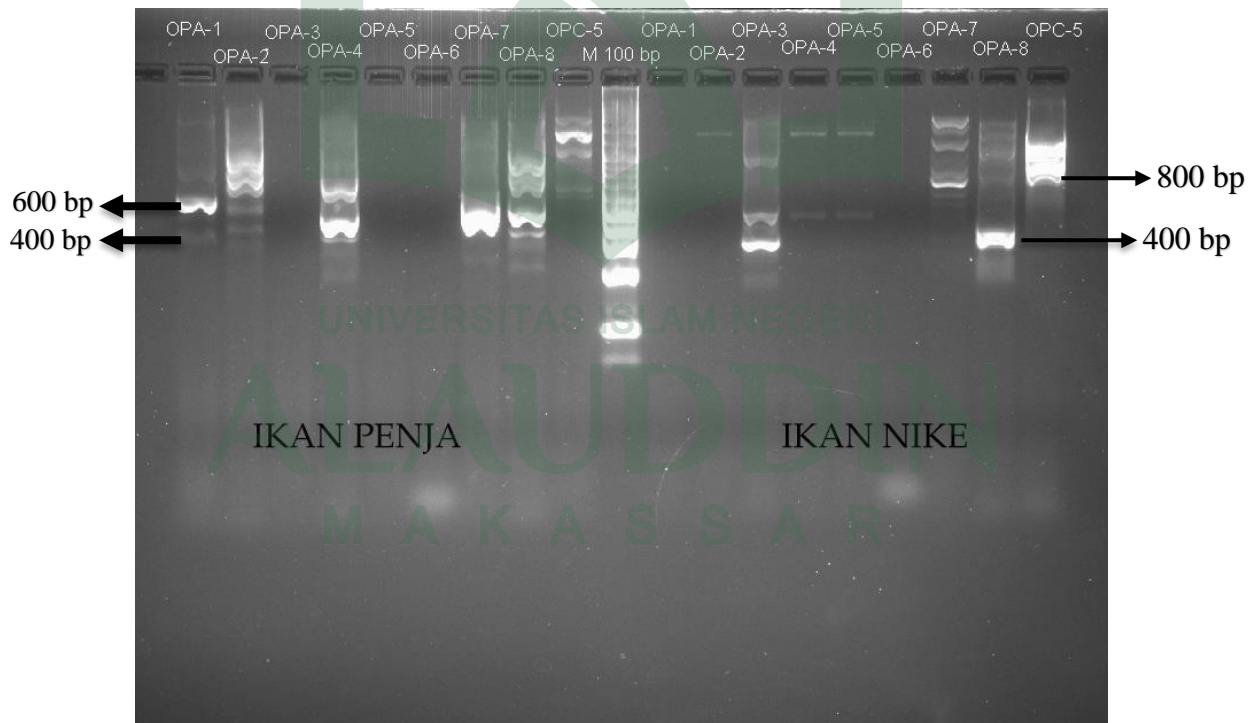
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Profil *Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD)*

Penelitian ini menggunakan 2 sampel ikan yaitu ikan penja dan ikan nike (*Awaous sp.*) untuk amplifikasi DNA dengan menggunakan 9 primer yaitu OPA-1, OPA-2, OPA-3, OPA-4, OPA-5, OPA-6, OPA-7, OPA-8 dan OPC-5. Hasil amplifikasi DNA ikan penja dan ikan nike (*Awaous sp.*) setiap primer memiliki karakter yang berbeda sehingga kisaran ukuran fragmen yang muncul juga berbeda (Gambar 4.2).



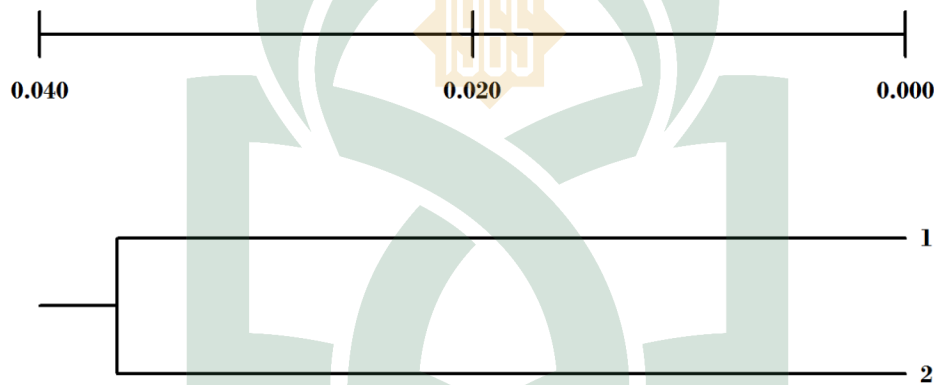
Gambar 4.2. Elektroforesis hasil amplifikasi PCR sampel DNA ikan penja dan ikan nike (*Awaous sp.*) dengan menggunakan primer OPA-1, OPA-2, OPA-3, OPA-4, OPA-5, OPA-6, OPA-7, OPA-8 dan OPC-5.

Panjang ukuran fragmen pita DNA yang dihasilkan setelah amplifikasi berkisar antara 200 bp sampai 1300 bp. Pada ikan penja primer OPA-1 menghasilkan amplifikasi DNA dengan ukuran fragmen 400-1200 bp sedangkan pada ikan nike (*Awaous* sp.) tidak menghasilkan amplifikasi DNA, selanjutnya OPA-2 pada ikan penja menghasilkan amplifikasi DNA dengan ukuran fragmen 500-900 bp sedangkan pada ikan nike (*Awaous* sp.) menghasilkan amplifikasi DNA dengan fragmen ukuran 1200 bp. Sedangkan primer OPA-3 pada ikan penja tidak menghasilkan amplifikasi DNA sedangkan pada ikan nike (*Awaous* sp.) menghasilkan amplifikasi DNA dengan ukuran fragmen 200-1300 bp, selanjutnya OPA-4 pada ikan penja menghasilkan amplifikasi DNA dengan ukuran fragmen 500 bp dan 800 bp sedangkan pada ikan nike (*Awaous* sp.) menghasilkan amplifikasi DNA dengan ukuran fragmen 500 bp dan 1200 bp.

Primer OPA-5 pada ikan penja tidak menghasilkan amplifikasi DNA sedangkan pada ikan nike (*Awaous* sp.) menghasilkan amplifikasi DNA dengan ukuran fragmen 500 bp dan 1200 bp. Primer OPA-6 baik pada ikan penja maupun ikan nike (*Awaous* sp.) tidak menghasilkan amplifikasi DNA. OPA-7 menghasilkan amplifikasi DNA dengan ukuran fragmen 500 bp pada ikan penja sedangkan pada ikan nike (*Awaous* sp.) menghasilkan amplifikasi DNA dengan ukuran fragmen 800-1300 bp. Primer OPA-8 dapat menghasilkan amplifikasi DNA dengan ukuran fragmen 400-900 bp pada ikan penja sedangkan pada ikan nike (*Awaous* sp.) menghasilkan amplifikasi DNA dengan ukuran fragmen 400-1200 bp. OPC-5 pada ikan penja menghasilkan amplifikasi DNA dengan ukuran fragmen 800-1300 bp sedangkan pada ikan nike (*Awaous* sp.) menghasilkan amplifikasi DNA dengan ukuran fragmen 900 bp dan 1100 bp.

2. Jarak Genetik

Hasil amplifikasi DNA ikan penja dan ikan nike (*Awaous* sp.) yang didapat dari setiap primer yang digunakan maka dapat digunakan untuk analisis jarak genetik dengan menggunakan program UPGMA (*Unweight Pair Methods Arithmetic*) menurut Wright (1978) yang dimodifikasi oleh (Rogers, 1972 dalam Simatupang, 2012) dan disajikan dalam bentuk dendrogram (Gambar 4.3) menunjukkan jarak genetik (*Distance*) antara ikan penja dan ikan nike (*Awaous* sp.) berkisar 0.0364 dengan indeks similaritas (*Indentities*) berkisar 0.9642.



Gambar 4.3. Dendrogram jarak genetik Nei's (1972) dari ikan penja dan ikan nike (*Awaous* sp.).

3. Sekuensing

a. Ikan penja

```

ATTTGGGGAGGCTGCTGAGAGACTACTCCATTTTACATGTGGTAAATT
CTAGTAGTAATTACTTTTAGAGTGCGCTCCCATTACCGGATACTTGCT
GAGCGGGTACATAATTTCCCGCTGTGGGTTAGCTGGAGGGTCAAGTC
AATTTTAGCAGCACATTACGAGAGCGCAGGGTTCAAGACGGCGCTGG
TAAACAATCTCGTAGCTGTTTGTTCGTCACGTTCCCGCCTGTGGTAT
TTTACACAGATACACACTGTTAGCCGCTGCAGGAACACAATTACCGA
CATCCTCTGAGTCAAGCGGTACAACCTAAGAACATACAGCAACACGC
AACCCCTGTCTCCCAACCCGTTTCAA

```

b. Ikan nike

CACCGGGTATTAATTAGTGTGCGAAGGCCTCGTGACCCCGGTGACTAT
CCCTAGTAGGCCTGGGGCCTGAATCGTGAAAGATCTTGGGAGCCGAG
CGAGAAAAAGCAGGGTCAAGGGAGCCCTGGTTCTTGTGAGAAATAGT
AATGCGTTCATAACTGTCCCCCATATCAAGAACAGGAATAATATGTT
GTGCCAGGGGTGCCGAATGAATGAGCAGACTCATCTTATTTGAGGTA
AACTGCTTGCCCGCTTTTTTCCCGGCAAAAATGTTGTGCTGCCTGCTTT
ATTGATGCATCCGACACCCCGGGGGAAGCGGTTTGTGATTGTTGGGC
CCTCCTCTTCTTCCCCCTCAATGACTCGCTCCCCTTCGTTCTTCTGCT
GCGAGCGGTATCATCTCACTAATCGGCGGTAATACTGCTATTATCCAC
ATAATCGGATGATACCGGAAAAAACAACATGTTAGCAGGACGTAGCA
GGTCGCCAAGAATCGTAAGGCCGCCTCGTTGCTGGTGTTTTTCCGACC
TCCCCCTGCCTGACATCATCACAATCGATCGCTCCTCAAGTCGAGGT
GGACCAGACCGACAGGACTATAATACATACGCGGCCTTTCCGCAGGA
ACCTCCCTCGCGCTCTCTGCTGTTACCGACCCGGCCATTACCGGATCT
TGTCTGTCTTTCTTCGGTAAGCATGCGCGGTGCTTATACTAACTCAGCT
GTAGGTATCTCAGTTCGGTGTGCTCGTCCATCAGGCTGGGTGTGTGAC
TAACCCTTCATTCAGCCGATGCGTGCGCTTTATCAGCTAACTTCTGTCT
TGAATCCACTCAGTAAGACCTTACTTATCCTCGACGCATGCACTGAAT
GTTACTAAGATTAAACACAGCTAGTTATGTAGCTGTGCGTACATAAGTT
ACTGAAGTGCTGACCTACGTACTCGCCAACGACCAACGAACATATTG
AGTACTCC

Hasil dari sekuensing berupa fasta sekuen nukleotida di analisis dengan menggunakan program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tools*). Gen ikan penja dan ikan nike (*Awaous* sp.) tidak ada kemiripan signifikan yang ditemukan dengan gen

ikan dari sekian banyak gen ikan yang telah dilaporkan di GenBank sebagaimana terlihat pada Gambar 4.4 dan Gambar 4.5.

BLAST [®] » **blastn suite** » RID-R72N0GGB014

U.S. National Library of Medicine | NCBI | National Center for Biotechnology Information | Sign in to NCBI

Home | Recent Results | Saved Strategies | Help

BLAST Results

[Edit and Resubmit](#) | [Save Search Strategies](#) | [Formatting options](#) | [Download](#) | [YouTube](#) | [How to read this page](#) | [Blast report description](#)

Nucleotide Sequence (966 letters)

RID R72N0GGB014 (Expires on 06-30 16:45 pm)	Database Name nr
Query ID Id Query_111561	Description Nucleotide collection (nt)
Description None	Program BLASTN 2.4.0+ » Citation
Molecule type nucleic acid	
Query Length 966	

No significant similarity found. For reasons why, click here

Other reports: » [Search Summary](#)

Copyright | Disclaimer | Privacy | Accessibility | Contact | Send feedback

BLAST is a registered trademark of the National Library of Medicine.

NCBI | NLM | NIH | DHHHS

Gambar 4.4. Hasil BLAST ikan nike indigenous perairan Gorontalo

BLAST [®] » **blastn suite** » RID-R47AYW9W014

U.S. National Library of Medicine | NCBI | National Center for Biotechnology Information | Sign in to NCBI

Home | Recent Results | Saved Strategies | Help

BLAST Results

[Edit and Resubmit](#) | [Save Search Strategies](#) | [Formatting options](#) | [Download](#) | [YouTube](#) | [How to read this page](#) | [Blast report description](#)

Nucleotide Sequence (359 letters)

RID R47AYW9W014 (Expires on 06-29 14:46 pm)	Database Name nr
Query ID Id Query_64101	Description Nucleotide collection (nt)
Description None	Program BLASTN 2.4.0+ » Citation
Molecule type nucleic acid	
Query Length 359	

No significant similarity found. For reasons why, click here

Other reports: » [Search Summary](#)

Copyright | Disclaimer | Privacy | Accessibility | Contact | Send feedback

BLAST is a registered trademark of the National Library of Medicine.

NCBI | NLM | NIH | DHHHS

Gambar 4.5. Hasil BLAST ikan penja indigenous perairan Polewali Mandar Sulawesi

Barat

B. Pembahasan

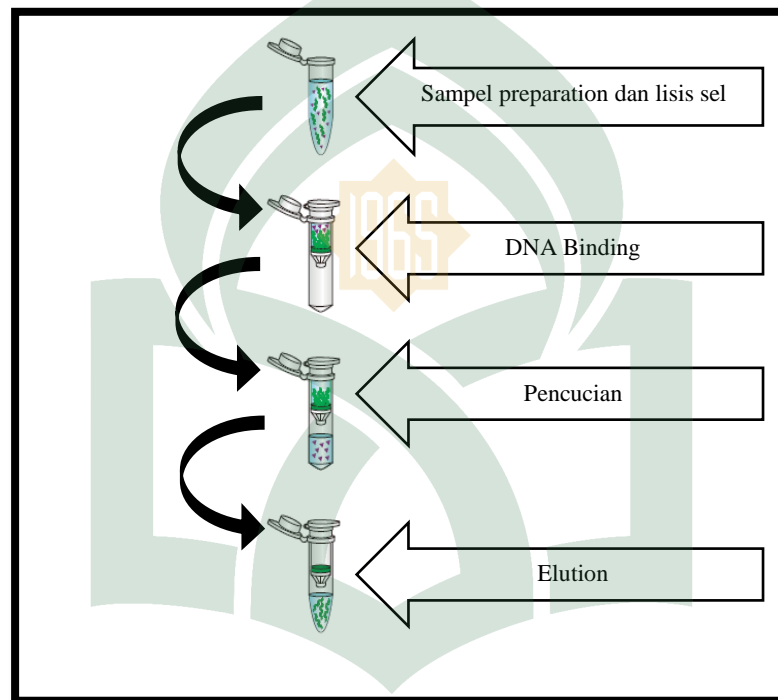
Pada penelitian ini terdiri dari 4 proses utama, yaitu yang paling dasar ekstraksi DNA selanjutnya dilanjutkan dengan amplifikasi setelah itu elektroforesis dan tahap akhir ialah sekuensing.

Prinsip dasar dari ekstraksi DNA adalah serangkaian proses untuk memisahkan DNA dari komponen-komponen lainnya seperti protein dan lain-lain. Hasil dari ekstraksi tersebut merupakan tahapan awal dan penting untuk langkah berikutnya (Lante, 2010: 15). Proses ekstraksi dilakukan mengacu pada pedoman intruksi manual oleh geneaid versi 02.12.14.

Ekstrak DNA ikan diperoleh dari seluruh bagian tubuh ikan yang di ekstraksi dengan prinsip *mini colomn* atau filtrasi DNA (seperti pada gambar 4.5) menggunakan gSYNC™ DNA Extraction Kit yang terdiri dari 5 tahap yaitu *tissue dissociation*, *cell lysis*, *DNA binding*, *wash*, dan *elution*. Pada tahap awal yaitu *tissue dissociation*, sampel yang telah di tambahkan GST *buffer* dan proteinase K di panaskan di water bath pada suhu 60°C selama 24 jam atau sampai sampel hancur. GST *buffer* berfungsi untuk menghancurkan jaringan pada ikan sedangkan proteinase K digunakan untuk menghancurkan protein pada ikan, pada tahap selanjutnya yaitu *cell lysis*, GSB *buffer* digunakan untuk merusak atau melisis sel dan RNA. Selanjutnya pada tahap *DNA binding* untuk mengikat dan memisahkan DNA dari larutan, digunakan absolute ethanol.

Pada tahap *wash*, larutan atau komponen lain selain DNA yang masih tertinggal dibersihkan atau dipisahkan menggunakan W1 *buffer*. Kotoran (*debris*) jaringan dan sel maupun protein dan RNA yang ditimbulkan akibat kerusakan dari senyawa kimia yang digunakan dibersihkan dengan cara sentrifugasi, sehingga yang tertinggal hanya DNA. Pada tahap akhir yaitu *elution*, DNA dilarutkan dengan menggunakan *elution buffer*. Ekstraksi DNA dengan *mini column* merupakan metode ekstraksi yang paling umum dilakukan karena hasil yang didapatkan sangat baik dalam waktu yang tidak terlalu lama (dibandingkan metode *phenol-clorophorm*) dan biaya yang lebih murah dibandingkan dengan *magnetic bead*. Meskipun demikian, metode

ini memiliki kekurangan antara lain memerlukan waktu lebih lama dibandingkan dengan metode lain. Waktu yang dibutuhkan untuk lisis jaringan yaitu 24 jam dan waktu yang dibutuhkan untuk lisis sel sampai mendapatkan ekstrak DNA murni memerlukan waktu sekitar 1 jam pengerjaan. Kekurangan lainnya yaitu metode ini menggunakan reagen kimia yang lebih banyak dibandingkan metode sederhana.



Gambar 4.6. Prinsip kerja ekstraksi DNA dengan menggunakan metode mini column

Hasil dari ekstraksi DNA yang berupa DNA murni ikan penja dan niki (*Awaous sp.*) kemudian di amplifikasi dengan menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) metode *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) yang terdiri dari 45 siklus.

Komponen-komponen yang dibutuhkan dalam proses PCR adalah DNA sample, dNTP, nukleotida primer yaitu nukleotida pendek untuk mengawali reaksi polimerisasi, enzim DNA *polymerase* untuk mengkatalis reaksi pemanjangan primer, ddH₂O, dan *buffer* PCR sebagai pelarut (Gelfand, 1990 dalam Sahabuddin, 2014: 20).

Dalam penelitian ini menggunakan mesin PCR BioRad T100 *Thermal Cycler* enzim Go Taq® *Green Master Mix*.

Metode RAPD mempunyai keunggulan antara lain tekniknya yang sederhana, tidak membutuhkan informasi tentang latar belakang genom organisme yang diteliti, lebih cepat memberikan hasil, mampu mendeteksi sekuen nukleotida hanya dengan satu primer, dan untuk mendeteksi spesies ikan dan molusca (Cordes, 2004: 11). Penanda molekuler RAPD yang digunakan merupakan sekuen DNA polimorfik yang dipisahkan oleh gel elektroforesis PCR menggunakan satu primer oligonukleotida pendek secara acak (Dunham, 2004 *dalam* Simatupang, 2012: 3). Dalam penelitian ini menggunakan 9 macam primer yaitu OPA-1, OPA-2, OPA-3, OPA-4, OPA-5, OPA-6, OPA-7, OPA-8 dan OPC-5.

Menurut (Pasternak, 1994 *dalam* Asphama, 2014: 66) menyatakan bahwa untuk mendapatkan data analisis yang baik diperlukan jumlah primer dan sampel yang banyak. Jumlah primer yang dibutuhkan juga berhubungan dengan tingkatan variasi genetik dari suatu spesies, enam sampai tujuh primer merupakan jumlah yang cukup untuk menguji variasi genetik intra dan interspesies yang populasinya polimorfik. Selanjutnya (Asahida, 1995) menggunakan empat primer yang berbeda untuk melihat variasi genetik pada beberapa populasi ikan sebelah (*Paralichthys olivaceus*) di Jepang. (Takagi, 1995) menggunakan tiga primer OPA untuk melihat variasi genetik *Angulia*, *A. japonica*, *A. australis* dan *A. bicolor*. Dan (Asih, 2008) menggunakan dua primer untuk uji variasi genetik ikan batak Tor soro. Tetapi untuk spesies dengan tingkat genetik yang rendah membutuhkan sepuluh sampai lima belas primer. Sepuluh primer digunakan oleh (Parenrengi, 2001) untuk mengetahui variasi genetik ikan kerapu (*Ephinephalus spp*) dan untuk menguji tiga spesies ikan sidat (*Anguilla sp*).

Keberhasilan amplifikasi DNA dengan PCR, maka dilakukan elektroforesis gel agarose 2% pada tegangan 100 volt, proses elektroforesis dihentikan setelah DNA bermigrasi dari kutub positif mencapai tiga perempat bagian panjang gel. Gel hasil elektroforesis kemudian divisualisasi dan didokumentasikan dengan menggunakan *Gel Document* yang dilengkapi dengan sinar UV.

Hasil dari elektroforesis menunjukkan bahwa hasil amplifikasi DNA kedua sampel ikan yaitu ikan penja dan ikan nike (*Awaous* sp.) setiap primer memiliki masing-masing karakter yang berbeda sehingga ukuran fragmen yang muncul juga berbeda, ukuran fragmen DNA yang muncul pada kedua sampel adalah sekitar 200 bp -1300 bp. Namun pada ikan penja 3 dari 9 primer yang digunakan yaitu primer OPA-3, OPA-5 dan OPA-6 tidak terjadi amplifikasi fragmen DNA, sedangkan pada ikan nike (*Awaous* sp.) terdapat 2 primer yang gagal dalam amplifikasi fragmen DNA. Menurut (Asphama, 2014: 71) kegagalan amplifikasi fragmen DNA disebabkan perbedaan sekuensi nukleotida primer.

Fragmen DNA hasil amplifikasi dari primer diterjemahkan menjadi data biner, yang kemudian dianalisis untuk mengetahui indeks similaritas (*Indentities*) dan jarak genetik (*Distance*). Hasil analisis jarak genetik hanya di peroleh 1 kluster dan menunjukkan bahwa jarak genetik (*Distance*) antara ikan penja dan ikan nike (*Awaous* sp.) berkisar 0.0364 dengan indeks similaritas (*Indentities*) berkisar 0.9642, berdasarkan kategori nilai jarak genetik, maka tergolong dalam kategori rendah.

Semakin tinggi indeks similaritas semakin kecil variasi genetiknya atau dengan kata lain semakin kecil jarak genetiknya, merupakan kekerabatan yang dekat dalam suatu populasi tersebut. Semakin tinggi Indeks similaritasnya mencerminkan semakin jauh hubungan kekerabatannya (Rogers, 1972 dalam Lante, 2010: 23).

Penelitian (Sahabuddin, 2014) Indeks similaritas ikan baronang dari tiga populasi yang dianalisis adalah berkisar 0.7290 – 0.8644 nilai indeks similaritas terendah diperoleh pada populasi antara perairan Kota Parepare dan Kabupaten Luwu yaitu 0.7290 Sedangkan nilai indeks similaritas tertinggi antara populasi Perairan Kota Parepare dan Kabupaten Takalar yaitu 0.8644. Indeks similaritas yang tinggi antara populasi perairan Kota Parepare dan Kabupaten Takalar menunjukkan bahwa keragaman genetik sangat dekat, sedangkan indeks similaritas yang rendah antara perairan Kota Parepare dengan Kabupaten Luwu menunjukkan keragaman genetik yang relatif jauh.

Jarak genetik ikan baronang antara populasi perairan Luwu, Parepare dan Takalar berkisar 0.1458 – 0.3161 jarak genetik ikan baronang terdekat didapatkan pada populasi Perairan Parepare dan Takalar yaitu 0.1458 sedangkan terjauh didapatkan pada populasi perairan Luwu dan Parepare dengan nilai 0.3161. Nilai jarak genetik ikan baronang antara populasi Takalar dengan Parepare yang memiliki nilai 0.1458 lebih rendah dari jarak genetik ikan baronang antara Parepare, Takalar dengan Luwu yang bernilai 0.1833, jarak genetik yang paling tinggi didapatkan pada lokasi antara Parepare dan Kabupaten Luwu dengan nilai 0.3161, namun nilai ini lebih rendah dibanding dengan nilai jarak genetik ikan Baronang (*Siganus guttatus*) yaitu 0,31 – 0.43 (Lante, 2010) pada daerah Selat Makassar dan Teluk Bone (Sahabuddin, 2014).

Sedangkan (Lante, 2010) melakukan pengamatan indeks similaritas ikan baronang (*Siganus guttatus*) dimana didapatkan populasi Polman, Barru, dan Takalar (Selat Makassar) antara 0.82 – 0.84, sedangkan indeks similaritas Malili (Teluk Bone) dan Polman, Barru, dan Takalar (Selat Makassar) berkisar antara 0.65 – 0.68. Dan Jarak genetik ikan baronang antara populasi Polman, Barru, Takalar dan Malili berkisar 0,1780-0,4256. Jarak genetik ikan baronang terdekat didapatkan pada

populasi Polman dengan Barru, sedangkan terjauh adalah populasi antara Barru dengan Malili

Jarak genetik yang rendah menunjukkan terjadi aliran gen antar populasi. Demikian pula semakin kecil jarak genetik antar individu dalam suatu populasi, maka semakin seragam populasi tersebut. Hilang atau berkurangnya keragaman genetik akan berakibat dalam pertumbuhan, perkembangan, fertilitas serta daya tahan tubuh terhadap penyakit yang merupakan proses penting dalam kehidupan, produksi dan reproduksi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa jarak genetik ikan berhubungan erat dengan kondisi geografis (Parenrengi, 2001).

Hasil amplifikasi fragmen DNA yang jelas dari primer kemudian di *Gel cut* untuk mendapatkan fragmen DNA tunggal dengan kualitas yang lebih baik dan bersih yang kemudian di pilih untuk proses sekuensing. Pada ikan penja primer yang menghasilkan fragmen DNA yang baik adalah OPA-7 sedangkan pada ikan nike (*Awaous* sp.) primer yang menghasilkan fragmen DNA yang baik adalah OPC-5. Selanjutnya, DNA hasil ekstraksi *Gel cut* dikirim ke PT. Genetika Science Indonesia yang kemudian akan dikirim ke 1st BASE *sequencing* INT di Malaysia untuk pemetaan pasang basa yang berhasil di amplifikasi.

Hasil sekuensing menunjukkan ikan penja menghasilkan sukuen nukleutida dengan panjang 360 susunan sedangkan pada ikan nike (*Awaous* sp.) menghasilkan sekuen nukleutida yang lebih panjang dengan panjang 966 susunan. Hasil sekuensing yang diperoleh dari malaysia selanjutnya dijadikan sebagai dasar untuk dianalisis pada GenBank menggunakan analisis BLAST (*Basic Local Alignment Search Tools*).

Analisis BLAST (*Basic Local Alignment Search Tools*) dilakukan dengan tujuan untuk membandingkan hasil yang diperoleh dengan hasil sekuen DNA dari seluruh dunia dari hasil yang didepositkan pada database gen bank sekuen publik.

Analisis BLAST (*Basic Local Alignment Search Tools*) dilakukan secara online pada website NCBI, 2016: (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) (Lampiran 3).

Hasil analisis BLAST (*Basic Local Alignment Search Tools*) dari ikan penja dan ikan nike (*Awaous* sp.) menunjukkan bahwa gen kedua ikan tersebut tidak memiliki adanya kemiripan signifikan yang ditemukan dengan gen ikan dari sekian banyak gen ikan yang telah dilaporkan di GenBank. Untuk ikan penja, hal ini disebabkan karena ikan penja belum pernah dilaporkan sebelumnya dan merupakan ikan yang belum memiliki nama ilmiah maupun nama Indonesia.

Nama penja sendiri merupakan nama yang diberikan oleh masyarakat daerah Sulawesi Barat, karena ikan penja merupakan jenis ikan asli daerah (*Indigenous species*) di perairan Polewali Mandar Sulawesi Barat, Indonesia. Sedangkan tidak adanya kemiripan gen yang signifikan pada ikan nike (*Awaous* sp.) disebabkan karena kualitas DNA hasil ekstraksi *Gel cut* yang disekuensing tidak murni dan kurang bersih (Lampiran 4) hal ini terjadi karena hasil ekstraksi gel yang tidak sempurna yang mengakibatkan masih ada gel agarose pada DNA. Menurut (Yusuf, 2011: 5) ikan nike atau dalam bahasa daerah Gorontalo dinamakan Dowu adalah ikan khas perairan Gorontalo yang merupakan *schooling* dari *juvenile Awaous melanocephalus*.

Berdasarkan hasil penelitian, adanya variasi genetik pada ikan penja dan ikan nike maupun pada makhluk hidup lainnya baik variasi dari *genotipe* maupun *fenotipe* telah di sebutkan dalam QS Faatir/35: 28 yang menjelaskan bahwa Allah Swt menciptakan manusia dan binatang-binatang maupun tumbuhan yang bermacam-macam bentuk, ukuran, jenis dan warnanya. Dengan mengetahui hal ini berdasarkan hasil penelitian dapat memberikan rasa takut kepada Allah Swt dan menambah keimanan kepada Allah Swt yang telah menciptakan makhluk hidup yang bervariasi.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Ikan penja *indigenous* perairan Polewali Mandar dan ikan nike (*Awaous* sp.) *indigenous* perairan Gorontalo memiliki jarak genetik (*Distance*) yaitu 0,0364 dengan indeks similaritas (*Indentities*) berkisar 0.9642, berdasarkan kategori nilai jarak genetik, maka tergolong dalam kategori rendah. Nilai ini menunjukkan bahwa ikan penja *indigenous* perairan Polewali Mandar dan ikan nike (*Awaous* sp.) *indigenous* perairan Gorontalo bukanlah ikan yang sama, namun memiliki hubungan kekerabatan yang sangat dekat.
2. Ikan penja *indigenous* perairan Polewali Mandar Sulawesi Barat belum pernah dilaporkan sebelumnya di Gen Bank, ikan ini merupakan ikan yang belum memiliki nama ilmiah dan nama Indonesia sendiri.

B. Saran

Adapun saran untuk penelitian selanjutnya adalah sebaiknya dalam melakukan penelitian sejenis menggunakan sampel lebih dari 2 sampel. Selain itu, sebaiknya penelitian tentang ikan penja *indigenous* perairan Polewali Mandar Sulawesi Barat lebih banyak dilakukan salah satu contohnya yaitu pola penyebaran ikan tersebut.

KEPUSTAKAAN

- Asahida T. Kobayashi T. Saitoh K. and Nakayama I. "Tissue Preservation and Total DNA Extraction from Fish Stored at Ambient Temperature Using Buffers Containing High Concentration of Urea". *Fisheries Sciences* 62 (5) (1996): 727-730.
- Akbar N. "Keragaman Genetik, Struktur Populasi dan Filogenetik Ikan Tuna Sirip Kuning (*Thunnus albacares*) di Perairan Maluku Utara dan Ambon, Indonesia". *Tesis*. Bogor: Sekolah PascaSarjana Institut Pertanian Bogor, 2014.
- Asih S. Nugroho E. Kristanto AH. Mulyasari. "Penentuan Variasi Genetik Ikan Batak (*Tor soro*) dari Sumatera Utara dan Jawa Barat dengan Metode Analisis Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD)". *Jurnal Riset Akuakultur* no. 1 (2008):91-97.
- Asphama AI. "Analisis Keragaman Genetik Spesies Kompleks *Portunus pelagicus* (Linnaeus, 1758) di Perairan Barru Berdasarkan Karakter Morfologi dan DNA". *Tesis*. Makassar: Program PascaSarjana Universitas Hasanuddin Makassar, 2014.
- Azim, W. Azim S. Ahmed K. Shafi H. Rafi T. Luqman M. "Diagnostic Significance of Serum Protein Electrophoresis". *International Journal Biomedica* Vol. 20 (Juni, 2004): 40-44.
- Basri MN. "Analisis Kadar Logam Berat (Pb, Cd, Cr, Zn dan As) Pada Ikan Nike (*Awaous Melanocephalus*) Asal Gorontalo Menggunakan MP-AES". *Skripsi*. Gorontalo: Fakultas Matematika dan IPA Universitas Negeri Gorontalo, 2015.
- Beaumont AR. Hoare K. "Biotechnology and Genetics in Fisheries and Aquaculture", dalam Kusmines II. *Karakterisasi Genetik Ikan Kelabau (*Osteochilus kelabau*) Dari BERB Agailokasidi Kalimantan Barat Menggunakan Metode RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA)*. *Berita Biologi* no. 4 (April 2011): 449-454.
- Bleeker, 1849. *Awaous Melanocephalus*. <http://www.discoverlife.org>.
- Bupati Majene. Peraturan Daerah Kabupaten Majene Nomor 12 Tahun 2012 tentang Rencana Tata Ruang Wilayah Kabupaten Majene. 2012.
- Bowditch BM. Albright DG. Williams JGK. And Braun MJ. "Use of Randomly Amplified Polymorphic DNA Markers in comparative Genomic Studies. Methods in Enzymology", dalam Sahabuddin, "*Studi Morfometrik, Meristik dan Variasi Genetik Ikan Baronang (*Siganus Canaliculatus* Park, 1797) di Perairan Teluk Bone dan Selat Makassar*". *Tesis*. Makassar: Program PascaSarjana Universitas Hasanuddin Makassar, 2014.
- Campbell NA. Reece JB. Mitchell LG. "*Biologi*". Jakarta: Erlangga, 2002.
- Connor C. "Development of A Real-Time PCR-Based System Targeting The 16S rRNA Gene Sequence for Rapid Detection of *Alicyclobacillus* spp. in Juice Products". *International Journal of Food Microbiology*. No. 33 (1 April 2005):229-235.
- Cordes JF. Liu ZJ. "DNA Marker Technologies and Their Applications in Aquaculture Genetics". *Aquaculture* 238 (2004): 1-37.

- Dunham RA. "Aquaculture and Fisheries Biotechnology: Genetic Approach", dalam Simatupang NF. *Karakterisasi Ragam Genetik Ikan Sepat (Trichogaster pectoralis) Berdasarkan Analisis RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) dan Morfometrik*. Bogor: Insitut Pertanian Bogor, 2012.
- Elsalam KAA. "Bioinformatic Tools and Guideline for PCR Primer Design". *African Journal of Biotechnology* no. 5 (Mei 2003): 91-95.
- Exoffier L. Smouse PE. Quattro JM. "Analysis of Molecular Variance Inferred from Metric Distance Among DNA Haplotypes; Application to Human Mitochondrial DNA Restriction Data. *Genetics* no. 131 (June 1992): 479-491.
- Fatchiyah. Arumingtyas EL. Rahayu S. *Biologi Molekuler Prinsip Dasar Analisis*. Jakarta: Erlangga, 2011.
- Gelfand DH. Innis M. "Optimization of PCR's. PCR Protocol. Guide to Methode and Aplication", dalam Sahabuddin, "*Studi Morfometrik, Meristik dan Variasi Genetik Ikan Baronang (Siganus Canaliculatus Park, 1797) di Perairan Teluk Bone dan Selat Makassar*". Tesis. Makassar: Program PascaSarjana Universitas Hasanuddin Makassar, 2014.
- Guttman A. "Gel and Polymer-Solution Mediated Separation of Biopolymers by Capillary Electrophoresis". *International Journal of Chromatographic Science* Vol. 41 (October 2003): 449-459.
- Handiwirawan E. "Keragaman Molekuler Dalam Suatu Populasi". Prosiding Lokakarya Nasional Pengelolaan dan Perlindungan Sumber Daya Genetik di Indonesia: Manfaat Ekonomi untuk Mewujudkan Ketahanan Nasional. Bogor, 20 Desember 2006.
- Haryanti. Sutarno. Wigawati E. "Variasi Genetik Ikan Anggoli (*Pristipomoides multidentis*) berdasarkan Pola Pita Allozim". *Jurnal Biodiversitas* no.2 (Juni 2003): 73-79.
- Hayuningtyas EP, Listiyowati N, Aritanto D. "Variasi Genetik Persilangan 3 Strain Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Dengan Ikan Mujair (*O. mossambicus*) Dengan Metode Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD)". Proseding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur. Subang, 2010.
- Irmawati. "Perubahan Keragaman Genetik Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) Generasi Pertama Pada Stok Hatchery". Tesis. Bogor: Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, 2003.
- Keith P. "Biology and Ecology of Amphidromous Gobiidae of The Indo-Pacific and The Caribbean Regions". *Journal of Fish Biology* no. 63 (2003): 1-17.
- Kirby. "DNA Fingerprinting. An Introduction", dalam Andi Ivo Asphama. "*Analisis Keragaman Genetik Spesies Kompleks Portunus pelagicus (Linnaeus, 1758) di Perairan Barru Berdasarkan Karakter Morfologi dan DNA*". Tesis. Makassar: Program PascaSarjana Universitas Hasanuddin Makassar, 2014.
- Kumar P. Thakur S. Mattu VK. Dutta R. "Standardization and Optimization of RAPD assay for genetic analysis of Noctuid species". *Journal of Entomology and Zoology Studies* no. 3 (2014): 111-117.

- Kurniawirawan A. “Analisis Keragaman Genetik Beberapa Populasi Ikan Batak (*Tor soro*) dengan Metode *Random Amplified Polymorphism DNA* (RAPD)”. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, 2007.
- Lante S. “Analisis Keragaman Genetik Populasi Ikan Baronang (*Siganus Guttatus*) di Selat Makassar dan Teluk Bone”. *Tesis*. Makassar: Program PascaSarjana Universitas Hasanuddin Makassar, 2010.
- Lelana NE. Sutarno. Etikawati N. “Identifikasi Polimorfisme pada Fragmen ND-5 DNA Mitokondria Sapi Benggala dan Madura dengan Teknik PCR-RFLP”. *Biodiversitas* no. 1 (Januari 2003): 1-6.
- Lipotu SA. Berhimpon B. Fatimah F. “Analisa Nilai Gizi Serta Komponen Asam Amino dan Asam Lemak dari Nugget Ikan Nike (*Awaous melanocephalus*) dengan Penambahan Tempe”. *Jurnal Chem. Prog.* no.1 (Mei 2013): 38-44.
- Lisna A. Limonu M. Mahendradatta M. Tawali A. “Kajian dan Pengembangan “*Crackers Nike*” Hasil Formulasi Tepung Jagung dan Ikan Nike”. *Laporan Tahunan Hibah Penelitian Kerjasama Antar Perguruan Tinggi (HIBAH PEKERTI)*. Gorontalo: Universitas Negeri Gorontalo, 2013.
- Maie T. Wilson M. Schoenfuss H. Blob R. “Feeding Kinematics and performance of Hawaiian Stream Gobies, *Awaous guamensis* and *Lentipes concolor*: Linkage of Functional Morphology and Ecology”. *Journal Of Morphology* no. 270 (December 2009): 344–356.
- Mahmud ATBA. “Evaluasi Kemurnian Genetik Sapi Bali di Kabupaten Barru Menggunakan DNA Penciri Mikrosatelit Lokus INRA035”. *Skripsi*. Makassar: Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, 2014.
- Mansyah M. “Deteksi Gen Tahan Penyakit dengan Menggunakan Marker Mikrosatelit Pada Beberapa Populasi Induk Udang Windu (*Penaeus monodon*) dari Alam. *Skripsi*. Makassar: Program Studi Budidaya Perairan Jurusan Perikanan Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin, 2012.
- Miller MP. “*Tools for Population Genetic Analyses (TFPGA)*”. Arizona: Department of Biological Science Northern Arizona University, 2000.
- Muhtarom A. “Tes DNA (Deoxyribo Nucleic Acid) Sebagai Alat Bukti Hubungan Nasab Perspektif Hukum Islam”. *Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Syari’ah Universitas Islam Negeri Sunan Kaluaga Yogyakarta, 2009.
- Mulyadiana A. “Keragaman Genetik *Shorea laevis* Ridl. di Kalimantan Berdasarkan Penanda Mikrosatelit”. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Kehutanan Insitut Pertanian Bogor, 2010.
- Mustafa A, Sara L, Alamsyah AS. “Studi Biologi Reproduksi Ikan Kerapu Sunu (*Plectropomus areolatus*) pada Musim Tangkap”. *Jurnal Mina Laut Indonesia* no. 1 (Januari 2013): 73-83.
- Nei M. 1987. “Moleculer Evolutionary Genetics. New York”, dalam Akbar N. “*Keragaman Genetik, Struktur Populasi dan Filogenetik Ikan Tuna Sirip Kuning (Thunnus albacares) di Perairan Maluku Utara dan Ambon, Indonesia*”. *Tesis*. Bogor: Sekolah PascaSarjana Institut Pertanian Bogor, 2014.

- , "Genetic Distance Between Population". *The American Nature* no. 919 (May-June 1972): 283-292.
- Ningtiyas WD. "Keragaman Gen MHC DRB3 exon 2 (*Major Histocompatibility Complex*) pada Populasi SAPI Bali dan Sapi Hasil Persilangan". *Skripsi*. Makassar: Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin Makassar, 2014.
- Nugroho E. "Evaluasi Variasi Genetik Ras-Ras Ikan Gurame dengan Menggunakan Marker DNA". *Jurnal Perikanan* no.2 (2011): 86-90.
- Pasternak J. Bernard R. 1994. "Molecular Biotechnology", dalam Andi Ivo Asphama. "Analisis Keragaman Genetik Spesies Kompleks *Portunus pelagicus* (Linnaeus, 1758) di Perairan Barru Berdasarkan Karakter Morfologi dan DNA". Tesis. Makassar: Program PascaSarjana Universitas Hasanuddin Makassar, 2014.
- Parenrengi A. "Genetic Variability of Grouper (*Epinephelus* Spp) From Indo Malaysian Water using FCR/RAPD Analysis". *Master/Tesis*. Trenggano: Faculty Science and Technology University Putra Malaysia Trenggano, 2001.
- Parenrengi A. Sulaeman. Suryati E. Tenriulo A. "Karakteristik genetika rumput laut *Kappaphycus alvarezii* yang dibudidayakan di Sulawesi Selatan". *Jurnal Riset Akuakultur*. no. 1 (2006):1-11.
- Putralaksana D. "Analisis Keragaman Genetik Ikan Napoleon (*Cheilinus undulatus*) di Kepulauan Seribu Berdasarkan DNA Mikrosatelit". *Skripsi*. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Insitut Pertanian Bogor, 2014.
- Rafalski JA, Tingey SV and Williams JGK. "RAPD Markers a New Technology for Genetic Mapping and Plant Breeding", dalam Sahabuddin, "Studi Morfometrik, Meristik dan Variasi Genetik Ikan Baronang (*Siganus Canaliculatus* Park, 1797) di Perairan Teluk Bone dan Selat Makassar". Tesis. Makassar: Program PascaSarjana Universitas Hasanuddin Makassar, 2014.
- Razali I. "Strategi Pemberdayaan Masyarakat Pesisir dan Laut". *Jurnal Pemberdayaan Komunitas* no. 2 (Mei 2004): 61-68.
- Rina. "Keragaman Genetik Ikan Pangasius Indonesia Berdasarkan Analisis DNA Mitokondria dengan Teknik PCR-RFLP". *Tesis*. Bogor: Program PascaSarjana, Institut Pertanian Bogor, 2001.
- Rogers JS. 1972. "Measures of Genetic Similarity and Genetic Distance", dalam Semuel Lante. "Analisis Keragaman Genetik Populasi Ikan Beronang (*Siganus Guttatus*) di Selat Makassar dan Teluk Bone". Tesis. Makassar: Program PascaSarjana Universitas Hasanuddin Makassar, 2010.
- Takagi M. Taniguchi N. "Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) for Identification of Three Species of *Agguilla*, *A. japonica*, *A. australis*, and *A. bicolor*". *Fisheries Science* 61(5) (1995):884-885.
- Sastra W. "Fermentasi Rusip". *Skripsi*. Bogor: Program Studi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, 2008.

- Sahabuddin. “Studi Morfometrik, Meristik dan Variasi Genetik Ikan Baronang (*Siganus Canaliculatus* Park, 1797) di Perairan Teluk Bone dan Selat Makassar”. Tesis. Makassar: Program PascaSarjana Universitas Hasanuddin Makassar, 2014.
- Saitoh K. Tanaka M. Ueshima R. Kamaishi T. Kobayashi R. Numachi KI. “Preliminary Data on Restriction Mapping and Detection of Length Variation in Japanese Flounder Mitochondrial DNA” *Aquaculture* no. 136 (1995):109-116.
- Setiawati KM. Muzaki A. Pemana GN. Wardana IK. Moria SB. “Variasi Genetik Ikan Hias Clown, *Amphiprion ocellaris*”. *Jurnal Perikanan* no.1 (2007): 42-48.
- Shihab MQ. *Tafsir Al-Mishbah Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati, 2002.
- Simatupang NF. “Karakterisasi Ragam Genetik Ikan Sepat (*Trichogaster pectoralis*) Berdasarkan Analisis RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) dan Morfometrik”. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, 2012.
- Skutkova H. Vitek M. Krizkova S. Kizek R. Provaznik I. “Preprocessing and Classification of Electrophoresis Gel Images Using Dynamic Time Warping”. *International Journal Electrochemical Science* no. 8 (2013):1609-1622.
- Sudarmadji. “Teknik Analisa Biokimia”, dalam Sahabuddin, “*Studi Morfometrik, Meristik dan Variasi Genetik Ikan Baronang (Siganus Canaliculatus Park, 1797) di Perairan Teluk Bone dan Selat Makassar*”. Tesis. Makassar: Program PascaSarjana Universitas Hasanuddin Makassar, 2014.
- Suryo. *Genetika Manusia*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, 2005.
- Susilowati R. “Keragaman Genetik Populasi Tiram Mutiara (*Pinctada margaritifera*) Berdasarkan Analisis DNA Mitokondria”. Tesis. Bogor: Sekolah PascaSarjana Institut Pertanian Bogor, 2008.
- Soewardi K. “Pengelolaan Keragaman Genetik Sumberdaya Perikanan dan Kelautan”, dalam Samuel Lante. “*Analisis Keragaman Genetik Populasi Ikan Beronang (Siganus Guttatus) di Selat Makassar dan Teluk Bone*”. Tesis. Makassar: Program PascaSarjana Universitas Hasanuddin Makassar, 2010.
- Sofro ASM. “Keanekaragaman genetik”, dalam Sahabuddin, “*Studi Morfometrik, Meristik dan Variasi Genetik Ikan Baronang (Siganus Canaliculatus Park, 1797) di Perairan Teluk Bone dan Selat Makassar*”. Tesis. Makassar: Program PascaSarjana Universitas Hasanuddin Makassar, 2014.
- Takagi, M. And N. Taniguchi. “Random amplified polymorphic DNA (RAPD) for identification of three species of *Anguilla*, *A. japonica*, *A. australis*, and *A. Bicolour*”. *Fisheries Science* 61 (5) (1995): 884-885.
- Toha AH. “Deoxyribo Nucleic Acid. Keanekaragaman, Ekspresi, Rekayasa dan efek pemanfaatannya”, dalam Sahabuddin, “*Studi Morfometrik, Meristik dan Variasi Genetik Ikan Baronang (Siganus Canaliculatus Park, 1797) di Perairan Teluk Bone dan Selat Makassar*”. Tesis. Makassar: Program PascaSarjana Universitas Hasanuddin Makassar, 2014.

- Veriana T. “Studi Etnobotani Tumbuhan Obat Tradisional Oleh Suku Jawa Dan Lembak Kelingi Di Kecamatan Sindang Kelingi Kabupaten Rejang Lebong Dan Implementasinya Pada Pembelajaran Biologi SMA”. *Skripsi*. Bengkulu: Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu, 2014.
- Vika TO. Purwantoro A. Wulandari RA. “Keragaman Molekuler pada Tanaman Lili Hujan (*Zephyranthes* spp.)”. *Jurnal Vegetalika* no.1 (2015): 70 -77.
- Watanabe S, Riani E, Kurniati TH, Sulistiono. “Kematangan Gonad Beberapa Jenis Ikan Buntal (*Tetraodon lunuris*, *T. fluviatilis*, *T. reticularrs*) di Perairan Ujung Pangkah, Jawa Timur”. *Jurnal Iktiologi Indonesia* no. 2 (2001): 25-30.
- Welsh J. M. Clelland Mc. “Fingerprinting Genomes Using. PCR With Arbitrary Primers”. *Nucleic Acids Research* no. 24 (1990): 7213 – 7218.
- Weir BS. “Genetic Data Analysis: Method for Discrete Population Genetic Data”, dalam Lisnawati P. *Analisis Keragaman Genetik Protein Darah Kuda Lokal Sulawesi Utara dengan Menggunakan Polyacrylamide Gel Electrophoresis (PAGE)*. Bogor: Institut Pertanian Bogor, 2011.
- Widiyati A. “Keragaman Fenotipe Dan Genotype Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dari Danau Tempe (Sulawesi Selatan) dan Beberapa Sentra Produksi di Jawa Barat. *Tesis*. Bogor: Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, 2003.
- Wigati E. Permana GN. Susanto G. Variasi Genetik Angoli Berdasarkan Pola Pita Allozim. *Jurnal Ilmiah Nasional* no. 6 (2003): 465-471.
- Williams JGK. Kubulik AR. Livak KJ. Rafalski JA. and Tingey SV. “DNA Polymorphisms Amplified by Arbitrary Primers are Useful as Genetic Marker”. *Nucleic Acid Reseach* no. 22 (1990): 6531-6535.
- Yamasaki N. Tachihara K. “Eggs and larvae of *Awaous Melanocephalus* (Teleostei: Gobiidae)”. *Ichthyological Research* no. 54 (October 2006): 89-91.
- Yusuf N. “Karakterisasi Gizi dan Pendugaan Umur Simpan *Savory Chips* Ikan Nike (*Awaous melanocephalus*)”. *Tesis*. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor Bogor, 2011.
- Yuwono T. *Biologi Molekuler*. Jakarta: Erlangga, 2005.
- , 2006. “Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction”, dalam Andi Ivo Asphama. “*Analisis Keragaman Genetik Spesies Kompleks *Portunus pelagicus* (Linnaeus, 1758) di Perairan Barru Berdasarkan Karakter Morfologi dan DNA*”. *Tesis*. Makassar: Program PascaSarjana Universitas Hasanuddin Makassar, 2014.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat-alat yang digunakan



Autoklaf



Neraca analitik



Freezer -20°C



Laminar air flow



Sentrifuge



Vortex



Mesin PCR (*Polimerase Chain Reaction*)
BioRad T100 Thermal Cycler



Profuge Gk-Centrifuge



Labu Erlenmeyer



Hot Plate



Stirrer



Satu set alat elektroforesis



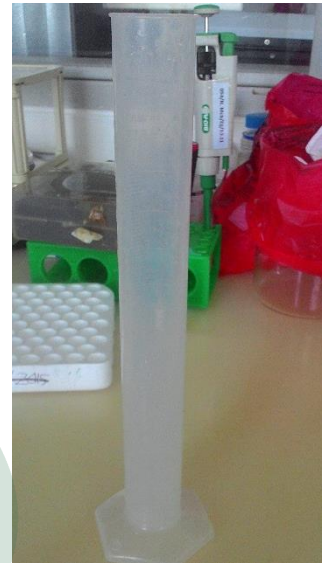
Mikropipet



Cutter dan Gunting



Gel document dan Komputer

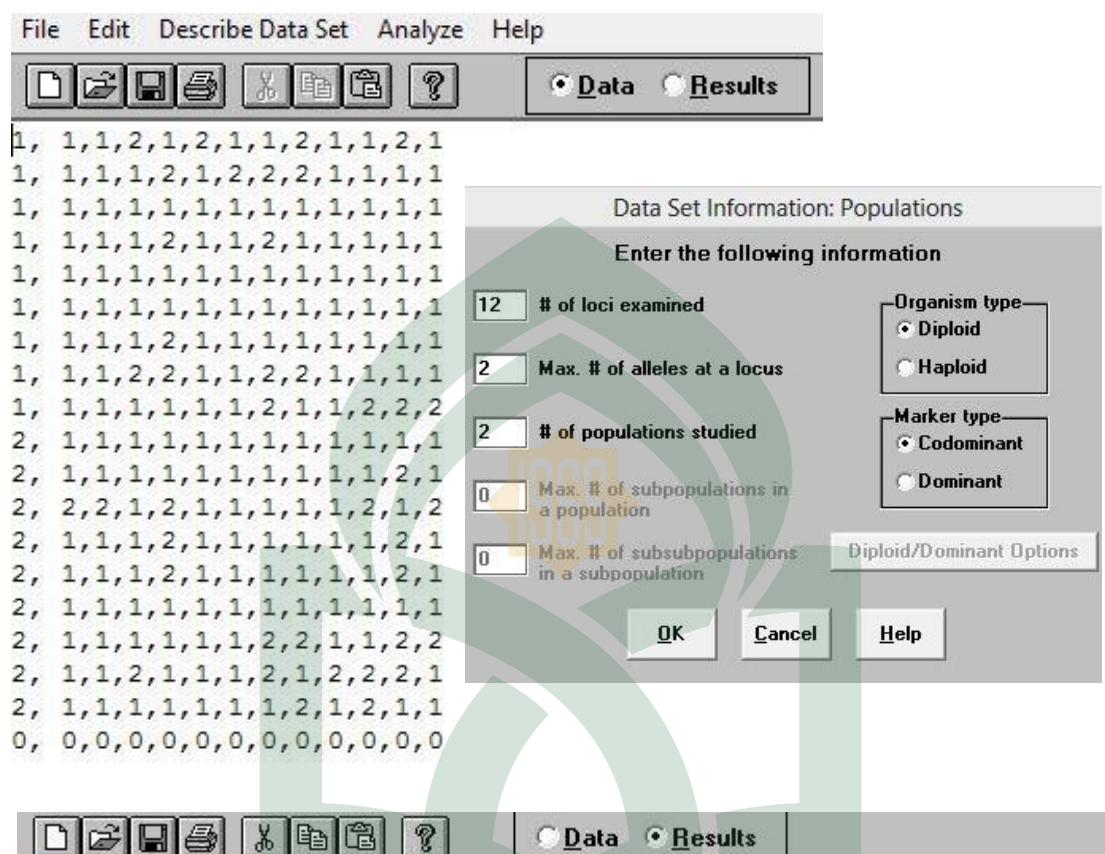


Gelas ukur

Lampiran 2. Komposisi PCR mix menggunakan GoTaq® Green Master Mix PCR (Promega, 2010)

Reaksi	(μ l)
ddH ₂ O	5,5
GoTaq® Green Master Mix	12,5
upstream primer	1
downstream primer	1
DNA template	5
Total mix	25

Lampiran 3. Analisis Data Jarak Genetik



The screenshot shows the GENETIC DISTANCES software interface. The main window displays a list of genotypes for 20 individuals across 12 loci. A dialog box titled "Data Set Information: Populations" is open, prompting the user to enter the following information:

- # of loci examined: 12
- Max. # of alleles at a locus: 2
- # of populations studied: 2
- Max. # of subpopulations in a population: 0
- Max. # of subsubpopulations in a subpopulation: 0
- Organism type: ☒ Diploid, ☐ Haploid
- Marker type: ☒ Codominant, ☐ Dominant

The dialog box also includes buttons for OK, Cancel, and Help, and a section for Diploid/Dominant Options.

Below the dialog box, the software output is displayed:

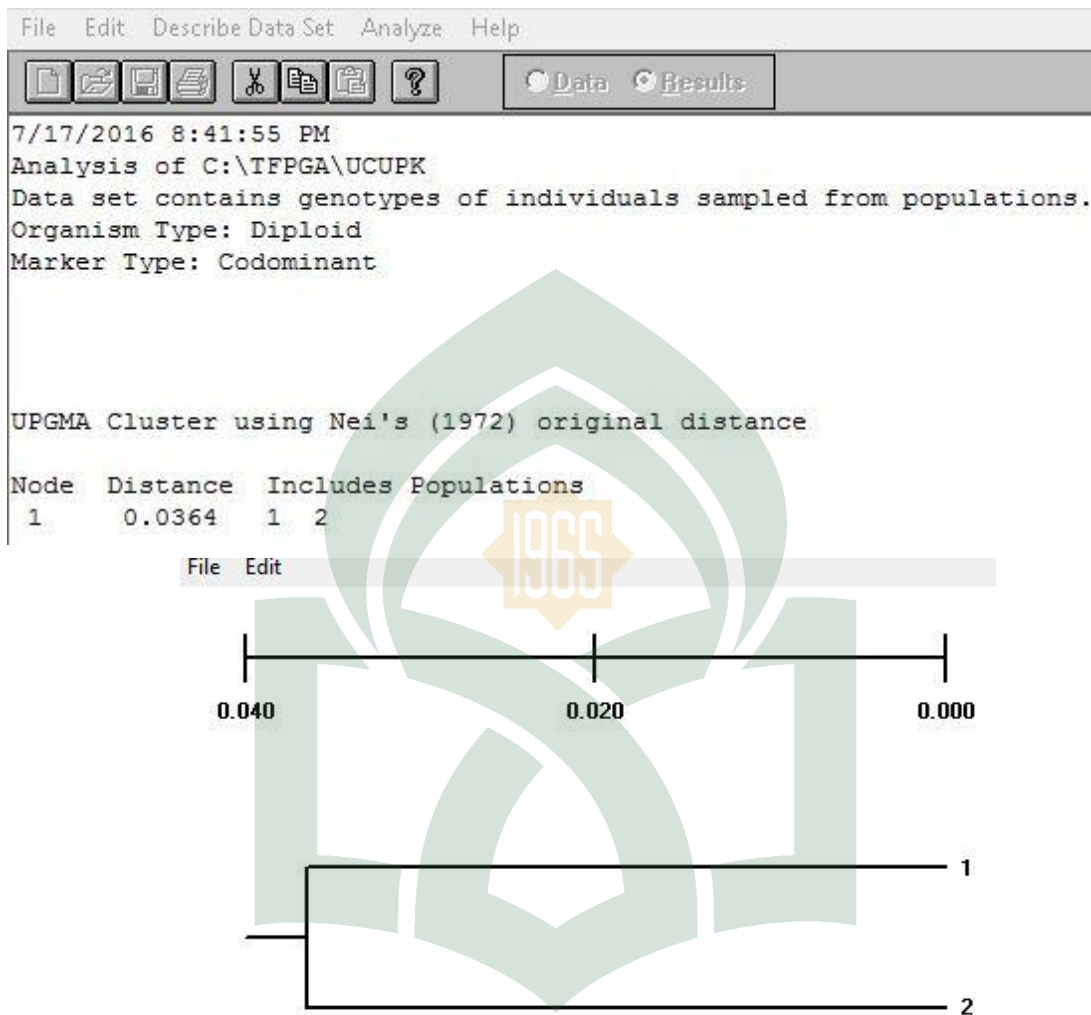
```

7/17/2016 8:37:21 PM
Analysis of C:\TFPGA\UCUPK
Data set contains genotypes of individuals sampled from populations.
Organism Type: Diploid
Marker Type: Codominant
  
```

GENETIC DISTANCES

NEI'S (1972/1978) IDENTITIES/DISTANCES

Populations compared	dist.	ident.	unbiased dist.	unbiased ident.
1 vs. 2	0.0364	0.9642	0.0161	0.9841



Lampiran 4. Analisis BLAST (*Basic Local Alignment Search Tools*)

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Getting Started Imported From Firefox

Basic Local Alignment Search Tool

BLAST finds regions of similarity between biological sequences. The program compares nucleotide or protein sequences to sequence databases and calculates the statistical significance. [Learn more](#)

The Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) finds regions of local similarity between sequences. The program compares nucleotide or protein sequences to sequence databases and calculates the statistical significance of matches. BLAST can be used to infer functional and evolutionary relationships between sequences as well as help identify members of gene families.

BLAST+ 2.4.0 released
 A new version (2.4.0) of the BLAST+ executables is now available.
 Thu, 02 Jun 2016 14:00:00 EST [More BLAST news...](#)

Web BLAST

Nucleotide BLAST
nucleotide ► nucleotide

blastx
translated nucleotide ► protein

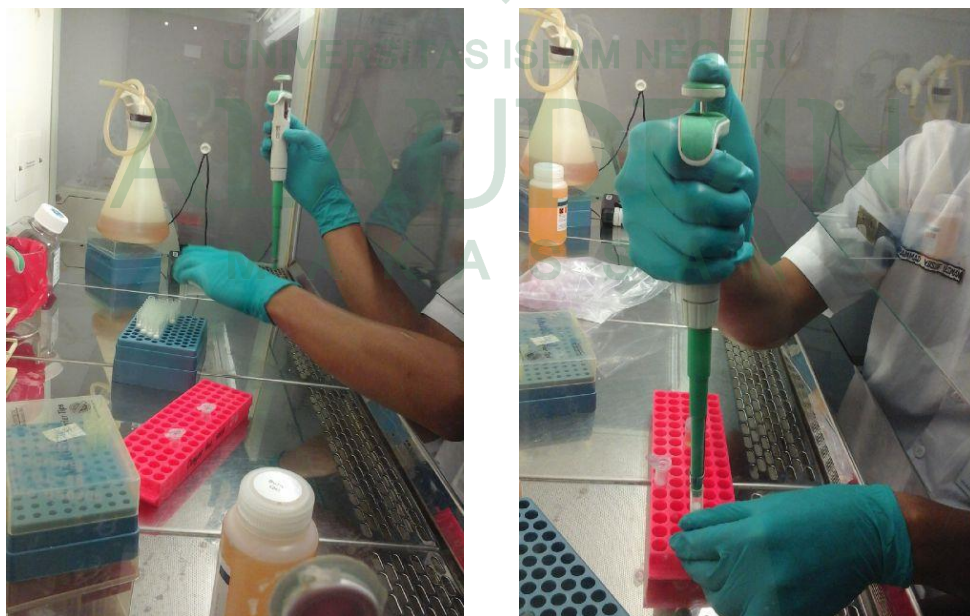
tblastn
protein ► translated nucleotide

Protein BLAST
protein ► protein

Lampiran 5. Kualitas DNA ikan Penja dan Nike (*Awaous* sp.)



Lampiran 6. Pengerjaan saat di Laboratorium



DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Muhammad Yusuf Usman, lahir di Sempang, pada tanggal 12 April 1995 Kabupaten Pinrang dari pasangan Usman dan Nur Hayati. Penulis adalah anak pertama dari tiga bersaudara.

Adapun riwayat pendidikan penulis, yaitu pada tahun 2006 lulus dari SDN 126 Sempang Barat Kabupaten Pinrang. Kemudian melanjutkan di MTs.N Pinrang dan lulus pada tahun 2009 setelah itu melanjutkan ke jenjang pendidikan selanjutnya di MAN Pinrang dan pada tahun 2012 melanjutkan ke Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar di jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi.

